



**UFSM - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CCR - CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS**

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS

MANUAL DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA

Sonia Terezinha dos Anjos Lopes

Alexander Welker Biondo

Andrea Pires dos Santos

3ª edição

Santa Maria, 2007

MANUAL DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA

Autores:

Dra. Sonia Terezinha dos Anjos Lopes
Professora Adjunta - Depto de Clínica de Pequenos Animais
UFSM - Santa Maria, RS
(55) 3220-8814 sonia@ufsm.br

Dr. Alexander Welker Biondo
Professor Adjunto - Depto de Medicina Veterinária
UFPR - Curitiba, PR
(41) 3350-5661 abiondo@uiuc.edu

MSc. Andrea Pires dos Santos
Doutoranda - Depto de Patologia Clínica Veterinária
UFRGS - Porto Alegre, RS
(51) 3308-6099 deasantos@ufrgs.br

Colaboradores:

MSc. Mauren Picada Emanuelli
Professora Substituta – Depto de Clínica de Pequenos Animais
UFSM – Santa Maria, RS
(55) 3220 8814 maurenvet@hotmail.com

Dra. Patrícia Mendes Pereira
Professora Adjunta – Depto de Clínicas Veterinárias
UEL – Londrina, PR
(43) 3371-4559 pmendes@uel.br

MSc. Alfredo Quites Antoniazzi
Doutorando – PPGMV
UFSM – Santa Maria, RS
(55) 3220 8752 alfredo.antoniazzi@biorep.ufsm.br

MSc. Stella de Faria Valle
Professora Assistente – Departamento de Medicina Veterinária
UPF – Passo Fundo, RS
(54) 3316-8444 stellavalle@upf.br

Santa Maria, 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS

Lopes, Sonia Terezinha dos Anjos
L864m Manual de Patologia Clínica Veterinária / Sonia
Terezinha dos Anjos Lopes, Alexander Welker
Biondo, Andrea Pires dos Santos ; colaboradores
Mauren Picada Emanuelli ... [et al.]. - 3. ed. - Santa
Maria: UFSM/Departamento de Clínica de
Pequenos Animais, 2007.
107 p. : il.

1. Medicina veterinária 2. Clínica
veterinária 3. Patologia clínica veterinária I.
Biondo, Alexander Welke II. Santos, Andrea Pires
III. Emanuelli, Mauren Picada, colab. IV. Título

CDU: 619:636.7/.8

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais

CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
97105-900 Santa Maria, RS.
Fone: (55) 3220-8814
(55) 3220-8460

Todos os direitos reservados

É proibida a reprodução completa ou parcial da obra sem prévia autorização

APRESENTAÇÃO

O roteiro do manual apresentado neste volume teve sua primeira edição elaborada em 1996, e se destina ao acompanhamento das aulas teóricas e práticas da disciplina de **Patologia Clínica Veterinária**.

Os assuntos deste manual são variados e abrangem grande parte da rotina laboratorial veterinária; sua abordagem visa basicamente fornecer subsídios para imediata aplicação, quer seja no ensino de patologia clínica veterinária, quer seja na prática diária do laboratório clínico veterinário.

Os autores agradecem a todos aqueles que, desde sua primeira edição, direta ou indiretamente, auxiliaram na confecção deste manual.

Os Editores

SUMÁRIO

MÓDULO I: HEMATOLOGIA.....	1
PARTE 1. INTRODUÇÃO	1
1. 1. Sangue	1
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 1: colheita de sangue.....	2
1. 2. Colheita de sangue venoso periférico.....	2
1. 3. Anticoagulantes	3
PARTE 2: ERITROGRAMA I	5
2. 1. Hematopoiese.....	5
2. 2. Órgãos envolvidos na hematopoiese.....	5
2. 3. Eritropoiese.....	6
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 2: hematócrito	7
2. 4. Eritrograma	7
2. 5. Valores Normais	7
2. 6. Hematócrito ou Volume Globular (%)	8
2. 7. Atividade extra: interferências no hematócrito.....	10
PARTE 3: ERITROGRAMA II	11
3. 1. Reticulócitos	11
3. 2. Regulação da Eritropoiese: eritropoietina.....	12
3. 3. Destruição Eritrocitária.....	13
3. 4. Hemoglobina.....	14
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 3: esfregaço sangüíneo	15
3. 5. Preparo do esfregaço e coloração.....	15
3. 6. Morfologia dos Eritrócitos	16
3. 7. Contagem de Reticulócitos.....	17
3. 8. Atividade extra: hemácias nas aves, peixes, répteis e anfíbios.....	17
PARTE 4: ANEMIAS E POLICITEMIAS	18
4. 1. Anemias.....	18
4. 2. Classificação das anemias	18
4. 3. Policitemias.....	22
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 4: Contagem de hemácias	23
4. 4. Modificações eritrocitárias	23
4. 5. Concentração de Hemoglobina	24
4. 6. Determinação de hemoglobina	25
4. 7. Determinação do número total de hemácias	25
4. 8. Atividade extra: medula óssea.....	26
PARTE 5: LEUCOGRAMA I	28
5. 1. Classificação dos leucócitos.....	28
5. 2. Granulopoiese	28
5. 3. Regulação da granulopoiese	28
5. 4. Granulocinética.....	29
5. 5. Neutrófilos.....	29
5. 6. Eosinófilos	31
5. 7. Basófilos	32
5. 8. Monócitos	33
5. 9. Linfócitos.....	33
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 5: Contagem de leucócitos	35
5. 10. Contagem total de leucócitos.....	35
PARTE 6: LEUCOGRAMA II	38
6. 1. Interpretação dos parâmetros leucocitários.....	38
6. 2. Fibrinogênio	38

6. 3. Leucocitose.....	38
6. 4. Leucopenia	40
6. 5. Classificação dos desvios de Neutrófilos.....	41
6. 6. Alterações leucocitárias quantitativas.....	42
6. 7. Alterações leucocitárias qualitativas.....	44
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 6: diferencial leucocitário	45
PARTE 7: HEMOSTASIA	48
7. 1. Introdução.....	48
7. 2. Vasos sanguíneos	48
7. 3. Hemostasia primária: vasos e plaquetas.....	48
7. 4. Hemostasia secundária: fatores de coagulação	49
A. Cascata de coagulação.....	49
7. 5. Hemostasia terciária: fibrinólise.....	51
7. 6. Testes laboratoriais para desordens hemostáticas	51
7. 7. Distúrbios hemostáticos.....	53
7.8. Hemostasia – Aves.....	57
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 7: testes de hemostasia	57
7. 9. Atividade extra: coagulograma	59
MÓDULO 2: BIOQUÍMICA CLÍNICA.....	60
PARTE 8: FUNÇÃO RENAL.....	60
8. 1. Funções dos rins	60
8. 2. O néfron.....	60
8. 3. Filtração glomerular	61
8. 4. Reabsorção e secreção tubular.....	62
8. 5. Fatores que afetam a filtração glomerular	62
8. 6. Urinálise.....	63
8. 7. Provas de função renal.....	71
8. 8. Uremias	72
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 8: colheita e exame da urina.....	72
8.9. Atividade extra: diferenciar hemoglobina de mioglobina	73
PARTE 9: FUNÇÃO HEPÁTICA.....	75
9. 1. Anatomia do fígado.....	75
9. 2. Funções do fígado	75
9. 3. Avaliação de função e lesão hepáticas.....	76
9. 4. Indicações para exames hepáticos específicos.....	77
9. 5. Proteínas plasmáticas	79
9. 6. Bilirrubinas	83
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 9: dosagem de bilirrubinas.....	85
PARTE 10: FUNÇÃO PANCREÁTICA.....	87
10. 1. Pâncreas exócrino	87
10. 2. Pâncreas endócrino	88
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 10: função pancreática.....	89
MÓDULO 3: CITOLOGIA.....	92
PARTE 11: DERRAMES CAVITÁRIOS.....	92
11. 1. Fisiologia dos líquidos corpóreos.....	92
11. 2. Alterações nas trocas de fluídos.....	93
11. 3. Classificação dos derrames cavitários.....	94
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 11: exame de líquido abdominal	95
11. 4. Abdominocentese	95
11. 5. Atividade extra: colheita e análise do líquido	96
MÓDULO 4: HEMOTERAPIA.....	98

PARTE 12: TRANSFUSÃO EM CÃES E GATOS	98
12.1. Introdução	98
12.2. Tipos Sangüíneos	98
12.3. Seleção dos Doadores	99
12.4. Colheita do sangue	99
12.5. Sangue Total e seus Componentes.....	100
12.6. Cálculo do volume a ser transfundido.....	100
12.7. A Transfusão Sanguínea	101
12.8. Reações Transfusionais	102
12.9. Testes de compatibilidade	102
ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 12: compatibilidade sangüínea	103
12.10. Prova de Reação Cruzada (ou Prova de Compatibilidade Sanguínea)...	103
PARTE 13. VALORES DE REFERÊNCIA.....	105
PARTE 14. BIBLIOGRAFIA.....	106

MÓDULO I: HEMATOLOGIA

PARTE 1. INTRODUÇÃO

1. 1. Sangue

O sangue é composto de uma parte líquida e outra celular. A parte líquida, denominada **plasma**, é obtida após centrifugação quando colhemos o sangue com anticoagulante, e contém o **fibrinogênio** e o **soro** quando sem anticoagulante, o fibrinogênio coagula e restam no soro os mais variados solutos orgânicos, como minerais, enzimas, hormônios, etc. Portanto o soro é constituído do plasma sem o fibrinogênio.

A parte celular é composta pelos **eritrócitos**, **leucócitos** e **plaquetas**. Nas aves, répteis, anfíbios e peixes, todas as células possuem núcleo, e as plaquetas são deste modo, chamadas de trombócitos. Nos mamíferos, apenas os leucócitos possuem núcleo; as hemácias os perdem durante sua formação, e as plaquetas são fragmentos de citoplasma da célula progenitora, os megacariócitos.

A principal função do sangue é o **transporte**, quer de substâncias essenciais para a vida das células do corpo, tais como oxigênio, dióxido de carbono, nutrientes e hormônios, quer de produtos oriundos do metabolismo, indesejáveis ao organismo, os quais são levados aos órgãos de excreção.

O **volume sangüíneo** normal nas espécies domésticas varia em torno de 6 a 10% do peso corpóreo, com grande variedade intra e interespecies, que é apresentada de forma resumida dos volumes sangüíneos de acordo com o peso corpóreo para as principais espécies animais (tabela 1.1).

O **hemograma** é o exame de sangue mais solicitado na rotina laboratorial devido à sua praticidade, economia e utilidade na prática clínica. Está dividido em três partes: 1. **Eritrograma**, que compreende o hematócrito, dosagem de hemoglobina e a avaliação morfológica e contagem total de eritrócitos; 2. **Leucograma**, composto pela avaliação morfológica e contagem total e diferencial de leucócitos; 3. **Plaquetas**, que se compõe de avaliação morfológica e contagem de plaquetas auxiliando a interpretação da hemostasia. Ainda, após a realização do microhematócrito, pode-se mensurar por refratometria as **proteínas totais plasmáticas**, que auxiliam na interpretação de diversas situações fisiológicas e patológicas.

Sendo o sangue responsável pela homeostasia do organismo, e o hemograma um exame geral do animal, **raramente o hemograma apresenta um diagnóstico definitivo** de determinada patologia ou doença. Ao invés disso, o hemograma oferece informações que podem ser utilizadas como ferramenta pelo clínico para, em associação a outros sinais e exames, realizar a busca diagnóstica.

Assim sendo, o hemograma é solicitado por várias razões, entre elas em um procedimento de **triagem** para avaliar a saúde do animal, na busca do **diagnóstico** ou **prognóstico** do animal, e ainda para verificar a habilidade corporal às infecções e para **monitoramento** do progresso de certas doenças. No entanto, a **história e o exame clínico** são essenciais para a interpretação dos dados hematológicos e outros testes laboratoriais que serão objetos de investigação.

Apenas quando descartadas as alterações ocasionadas por interferência na colheita de amostras é que podemos com segurança interpretar seus resultados de modo claro e representativo. Isso porque alterações causadas pela **excitação (adrenalina)** e ou **estresse (corticóides)** durante a colheita podem desencadear processos mediados por estes hormônios. Além disso, drogas administradas exógenamente também podem interferir nos resultados de um hemograma como, por exemplo, o uso de glicocorticóides. Resultados anormais em um hemograma são **inespecíficos**, podendo estar associados a várias doenças ou condições que provocam respostas similares; no entanto, como mencionado anteriormente, o hemograma pode ser diagnóstico em certas patologias, como hemoparasitas ou leucemias.

TABELA 1.1. Volume sangüíneo nas diversas espécies animais segundo o peso corpóreo

ESPÉCIE	PESO CORPÓREO	
	mL/Kg	%
Cães	77 - 78	8 - 9
Gatos	62 - 66	6 - 7
Vacas lactantes, bovino em crescimento	66 - 77	7 - 8
Vacas leiteiras jovens, cavalos de sangue quente	88 - 110	10 - 11
Vacas não-lactantes, cavalos de sangue frio	62 - 66	6 - 7
Ovelhas, cabras,	62 - 66	6 - 7
Suínos adultos	55	5 - 6
Animais de laboratório	-	6 - 7

O ideal na prática veterinária é que a amostra laboratorial seja colhida no mesmo local do seu processamento. No entanto, na maioria das vezes, este procedimento é realizado pelo clínico em seu ambulatório, e enviado ao laboratório para a realização do exame. Deste modo, para se obter resultados confiáveis, uma **colheita adequada** constitui etapa tão importante quanto a própria realização do exame e sua posterior interpretação.

Uma colheita e **acondicionamento** adequados devem seguir rigidamente os métodos preconizados pela técnica, bem como estarem condizentes com o procedimento do laboratório que irá processar o material. Mesmo com a diversidade de amostras a serem colhidas, algumas regras básicas são comuns a todas. A mais importante delas talvez seja a adequada identificação da amostra, tanto junto ao frasco ou embalagem do material, como na guia de requisição do exame.

A **identificação** da amostra deve ser feita de modo a não se destacar ou sair durante o acondicionamento, principalmente quando a amostra estiver sob refrigeração ou com cubos de gelo em caixa de isopor. O número ou nome do animal deve ser claro, escrito em letras nítidas, se possível com a data de colheita. A guia ou ficha de requisição também é de suma importância na realização do exame laboratorial.

Exame Nº : _____

Proprietário:			RG:	Data: / /
Espécie:	Raça:	Sexo	Idade:	Horário da colheita
Diagnóstico Provisório:		Tratamento? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO Qual?		
História Clínica Resumida				
Observações:				

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 1: colheita de sangue

1. 2. Colheita de sangue venoso periférico

- **Conter o animal adequadamente** proporcionando o mínimo de estresse, para obter-se um resultado hematológico representativo;
- Após antisepsia introduzir agulha percutaneamente através da veia distendida por prévio garrote manual abaixo do ponto de colheita. A **colheita pela veia jugular** é o local mais adequado para análises hematológicas na maioria das espécies (tabela 1.2);
- Conectar seringa descartável graduada e **colher o sangue lentamente**, correspondente à quantidade de anticoagulante contida no frasco de acondicionamento;
- Após completar o volume desejado, retirar a seringa. **Desfazer o garrote antes** de remover a agulha e **comprimir manualmente** o local de punção com algodão embebido

em álcool iodado;

- **Retirar a agulha** e transferir o sangue colhido da seringa, com suave compressão do êmbolo para evitar hemólise, dentro de vidro estéril contendo anticoagulante EDTA (2,0 mg/mL de sangue). Este anticoagulante é diluído a 10% na proporção de 0,1mL para cada 5mL de sangue. A amostra pode ser utilizada para a realização do hemograma, fibrinogênio e contagem de plaquetas.

TABELA 1. 2. Locais e agulhas mais utilizados na colheita de sangue periférico

Espécie animal	Local de venopunção	Calibre da agulha
Cão	Cefálica, Jugular, Safena	25x7, 25x8, 25x9; 40x12
Gato	Cefálica, Jugular, Safena	25x7, 25x8
Bovino	Jugular, Caudal, Mamária	40x12, 40x16
Eqüino	Jugular	40x12, 40x16
Ovinos e Caprinos	Jugular	40x10, 40x12, 40x16
Suínos	Cava anterior, Marginal da orelha	40x12, 40x16
Coelhos	Marginal da orelha, cardíaca	25x7; 40x12

*25x7 (22Gauge): 25mm de comprimento e 0,7mm de calibre

Importantes causas de hemólise:

- **Calor excessivo**, seringas e agulhas molhadas e/ou quentes. Certifique-se de que tudo está seco e à temperatura ambiente;
- **Demora na colheita**, forte pressão negativa na seringa. Caso a colheita se mostrar difícil, "lave" a seringa e agulha com o anticoagulante previamente à colheita;
- **Descarga violenta** da seringa no frasco, ou feita com a agulha. Retire a agulha ao transferir o sangue da seringa para o frasco;
- **Homogeneização violenta** com o anticoagulante. Faça-a gentilmente, por inversão do tubo por pelo menos dez a doze vezes;
- **Uso incorreto dos anticoagulantes.**

1. 3. Anticoagulantes

EDTA (Etileno diamino tetra acetato de sódio ou de potássio)

Modo de ação: reage através de seus dois radicais ácidos com cálcio plasmático, formando um quelato com os elementos alcalino-terrosos, tornando-se insolúvel.

Uso: Recomendado para a rotina hematológica porque não interfere na morfologia celular, preservando-a por até 24 horas quando refrigerado adequadamente. É pouco solúvel, e o sal de potássio é o mais solúvel e mais caro. A diluição é realizada a 10%, e toma-se 0,1mL de EDTA para 5mL de sangue.

Fluoreto de sódio

Modo de ação: quelante de cálcio, com a formação de sais insolúveis.

Uso: Como impede a glicólise sanguínea, realizada in vitro principalmente pelos eritrócitos, é indicado para determinação da glicose. Há produto comercial pronto para uso, na medida de 1 gota para cada 3mL de sangue.

Heparina

Modo de ação: atividade como inibidor da trombina e tromboplastina

Uso: Alguns bioquímicos. Como interfere na coloração do esfregaço sanguíneo, não é recomendado para hemograma. A diluição é de 0,1mL de solução a 1% para não coagular 5,0mL de sangue. A heparina retarda a coagulação do sangue por apenas 8 horas.

Citrato de sódio

Modo de ação: quelante de cálcio, com a formação de sais insolúveis.

Uso: Provas de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada). Seu emprego se faz em soluções 1,34g%, na proporção de 10%, ou seja, 0,5mL para 4,5mL de sangue.

1.4 Atividade extra: comparando diferentes anticoagulantes

- Colha adequadamente amostras de sangue em três diferentes frascos com os seguintes anticoagulantes: EDTA (tampa roxa), heparina (tampa verde) e fluoreto de sódio (tampa

cinza);

- Abra os tubos. Raspe um giz de lousa (carbonato de cálcio) na borda de cada tubo, de modo que um pouco do pó de giz caia dentro de cada tubo;
- Cronometre o tempo que cada tubo leva para que ocorra a coagulação, movimentando o tubo em ângulo. Acondicione os frascos em temperatura ambiente por 12-24 horas.

O sangue dos frascos com **EDTA e fluoreto de sódio** (ambos quelantes de cálcio) coagulam após um período de 8-12 minutos, visto que o giz oferece mais cálcio que a capacidade quelante no tubo. Grosseiramente, você acabou de realizar o **tempo de coagulação**.

O frasco com **heparina** não deve coagular com a adição do giz, pois sua atividade anticoagulante não depende do cálcio. No entanto, decorridas 8-12 horas, o efeito anticoagulante cessa, e o sangue do tubo com heparina deve coagular após este período.

PARTE 2: ERITROGRAMA I

2. 1. Hematopoiese

A **hematopoiese normal** ocorre extravascularmente na medula óssea dos mamíferos, mas pode acontecer em outros órgãos que participaram da hematopoiese na vida fetal e recém-natal. Em aves, embora a granulopoiese ocorra extravascularmente, a eritropoiese e os trombócitos são produzidos intravascularmente.

Na vida embrionária a hematopoiese inicia-se no **saco vitelino**, estágio em que há o início da formação vascular. Com o desenvolvimento fetal o **fígado, o baço e a medula óssea** são os maiores órgãos hematopoiéticos (figura 2.1). Durante a segunda metade do desenvolvimento do feto a medula óssea e os órgãos linfóides periféricos (para os linfócitos) são os maiores locais de produção de células sangüíneas.

Após o nascimento a hematopoiese passa a ocorrer somente na medula óssea nos mamíferos. Inicialmente a **medula óssea de todos os ossos** participa desta atividade, mas com a idade esta função vai limitando-se à medula óssea dos **ossos chatos e epífises dos ossos longos**, isto porque a demanda por eritrócitos decresce com a maturidade. No animal adulto, os principais ossos envolvidos no processo são: o esterno, o crânio, o ílio, as costelas e as extremidades do fêmur e do úmero.

A **medula vermelha ou ativa** com o tempo vai desaparecendo e deixa de ser hematopoiética, sendo substituída por tecido gorduroso, o qual forma a **medula amarela ou inativa**. Em casos de necessidade ocorre regeneração e a medula amarela passa a ser vermelha. Nestes casos, a hematopoiese pode voltar a ser realizada pelo fígado, baço e linfonodos. Na fase senil a medula óssea amarela se torna **medula fibrosada** e é de difícil e vagarosa expansão, o que dificulta a rápida resposta à anemia nestes animais.

Deste modo, podemos facilmente associar a hematopoiese à vida do indivíduo. A fase de rápido crescimento do jovem está associada à expansão do volume sangüíneo, com pesada demanda na medula por eritrócitos, portanto todos os ossos são capazes de hematopoiese.

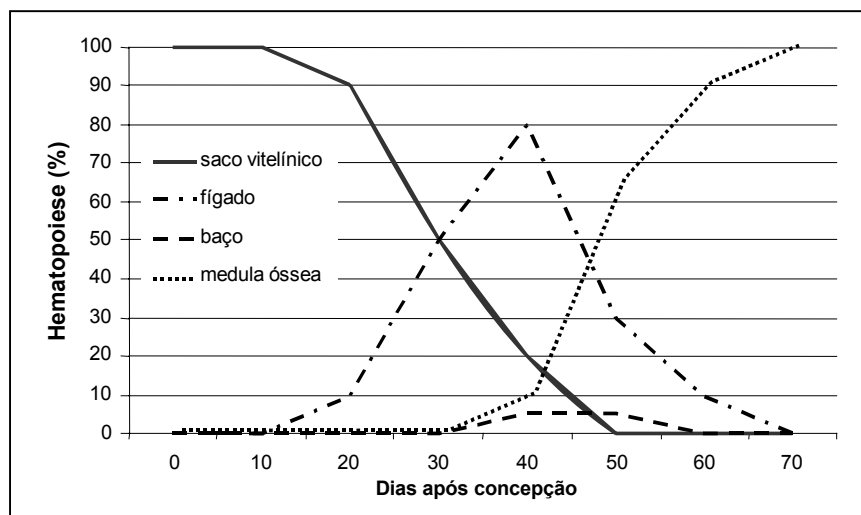


FIGURA 2. 1. Contribuição da produção sangüínea no gato (Jain, 1986).

2. 2. Órgãos envolvidos na hematopoiese

O **baço** armazena e elimina hemácias (hemocaterese) e plaquetas, além de estar envolvido na hematopoiese inicial, produz linfócitos e plasmócitos, degrada hemoglobina, estoca o ferro, remove corpúsculos de Howell-Jolly, corpúsculos de Heinz e parasitas dos eritrócitos.

O **figado**, responsável pelo estoque de vitamina B₁₂, folato e ferro, produz muitos dos fatores de coagulação, albumina e algumas globulinas, converte a bilirrubina livre à conjugada para excretá-la pela bile, participa da circulação entero-hepática do urobilinogênio, produz um precursor (α -globulina) da eritropoietina ou alguma eritropoietina e retém seu potencial embrionário para hematopoiese.

O **estômago** produz HCl para liberação do ferro do complexo de moléculas orgânicas e o fator intrínseco para facilitar a absorção da vitamina B₁₂. A **mucosa intestinal** está envolvida na absorção da vitamina B₁₂ e folato e controla a taxa de absorção de ferro em relação as necessidades corporais. Os **rins** produzem eritropoietina, trombopoietina e degradam excessivamente a hemoglobina filtrada do ferro e bilirrubina para excreção na urina.

O **timo** consiste em um órgão linfóide central responsável pela diferenciação das células precursoras, derivadas da medula óssea, em linfócitos T imunologicamente competentes, envolvidos na imunidade celular e produção de linfocinas. Os **linfonodos e folículos** produzem linfócitos que sob estimulação antigênica se transformam em plasmócitos, estando engajados ativamente na síntese de anticorpos.

O **sistema monocítico-fagocitário** (sistema reticuloendotelial) consiste no maior sistema fagocítico do organismo encarregado da defesa celular na infecção microbiana, destrói várias células sangüíneas, degrada hemoglobina em ferro, globina e bilirrubina livre, estoca o ferro e secreta macromoléculas de importância biológica, por exemplo, fatores estimulantes de colônia e complemento.

2. 3. Eritropoiese

O processo de eritrogênese que resulta na formação de eritrócitos maduros é conhecido como **eritropoiese**, levando em torno de sete a oito dias para se completar. O núcleo eritrocitário é expulso no decorrer do processo de desenvolvimento nos mamíferos e fagocitado por macrófagos locais. Enquanto nas aves, peixes, anfíbios e répteis as hemácias são nucleadas.

As células ficam na medula óssea até a fase de metarrubricito, e nas fases finais de maturação, como o reticulócito, podem ser encontrados no sangue periférico em algumas espécies. Os reticulócitos não são encontrados no sangue em condições de normalidade nos eqüinos, bovinos, suínos e caprinos. A fase de proliferação, compreendida entre a célula pluripotencial até o metarrubricito, leva de dois a três dias, enquanto o restante consiste na fase de maturação, levando em torno de cinco dias.

A eritropoiese é formada na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial de origem mesenquimal **chamada célula tronco** ou célula mãe que é estimulada a proliferar e diferenciar-se em “burst” de unidade formadora eritróide (BUF-E) pela IL-3 e fator estimulante de colônia granulocítica-monocítica na presença da eritropoietina (EPO).

Esta diferenciação ocorre sob influência do **microambiente medular local** e por citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos T ativados. A proliferação e diferenciação da BUF-E para unidade formadora de colônia eritróide (UFC-E) resulta da presença destes mesmos fatores e pode ser potencializado por fatores de crescimento adicional. A EPO é o fator de crescimento primário envolvido na proliferação e diferenciação de UFC-E para rubriblasto, a primeira célula morfológicamente reconhecível das células eritróides. A seguir seguem as divisões/maturações em que serão formados: pró-rubricito, rubricito, metarrubricito, reticulócito e eritrócito. Os eritrócitos são células encarregadas de transportar oxigênio dos pulmões aos tecidos e dióxido de carbono no sentido inverso.

A eritropoiese normal envolve um **mínimo de quatro mitoses**: uma na fase de rubriblasto, outra no estágio de pró-rubricito e duas no estágio de rubricito basofílico. O rubricito basofílico matura-se em rubricito policromático, que se transformará em metarrubricito. Ocasionalmente o rubricito policromático pode se dividir. A denucleação do metarrubricito leva à formação de reticulócito, o qual finalmente matura-se, dando origem ao eritrócito (figura 2.2).

A nomenclatura recomendada para as células eritróides morfológicamente identificáveis é: Rubriblasto – pró-rubricito – rubricito basofílico – rubricito policromático – metarrubricito – reticulócito – eritrócito.

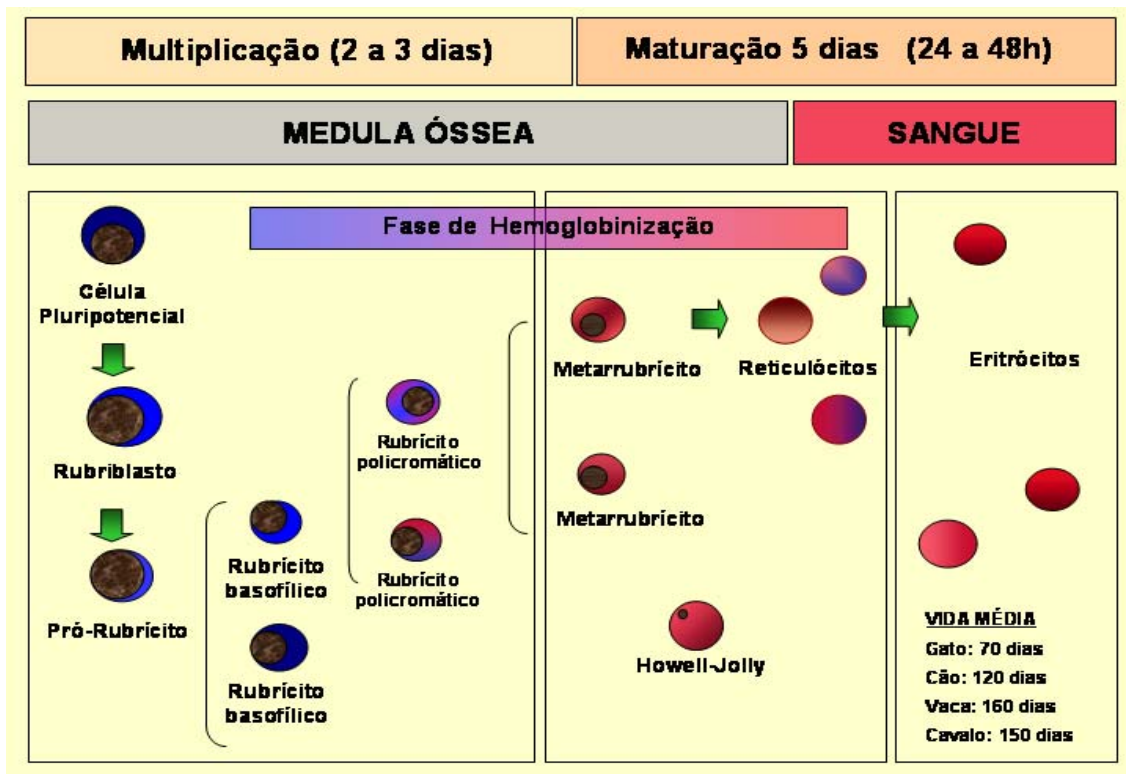


FIGURA 2. 2. Eritropoiese nos mamíferos domésticos (segundo Jain, 1986).

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 2: hematócrito

2. 4. Eritrograma

Como já comentado no capítulo 1 o hemograma é o exame realizado com o sangue periférico colhido com anticoagulante, com o objetivo de se obter informações gerais sobre o animal no momento da colheita. Ele é composto de três partes: o **Eritrograma**, o **Leucograma**, e as **Plaquetas**.

Na solicitação do exame é necessário adequada identificação da amostra: rótulo no frasco de colheita, ficha contendo nome do proprietário, data, espécie animal, raça, sexo, idade, hora da colheita, diagnóstico provisório, tratamento, história clínica resumida, nome, assinatura e CRMV do requisitante e do examinador.

O **eritrograma** compreende o número total de hemácias/ μ l, concentração de hemoglobina (g/dl), volume globular (%), VCM (fl), CHCM (%), proteínas plasmáticas (g/dl), reticulócitos (%), metarrubrículos/100 leucócitos. Observações no esfregaço sangüíneo: anisocitose, policromasia, hemoparasitas, etc.

2. 5. Valores Normais

Há que se entender que os valores de tabela ou de referência são frutos da média de exames realizados numa população clinicamente sadia e, portanto obedecem a uma curva normal de distribuição. Deste modo pode existir um pequeno percentual de animais da população sadia com resultados laboratoriais próximos aos extremos (border line), ou fora deles; e o inverso também, ou seja, animais doentes com valores dentro da faixa de referência. Por isso estes exames devem ser interpretados clinicamente (figura 2.3).

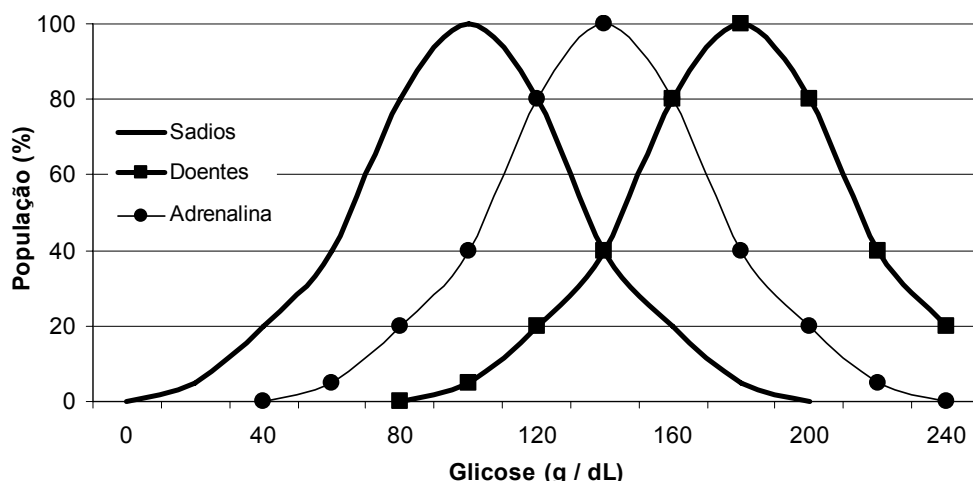


FIGURA 2. 3. Curva hipotética de distribuição normal de valores obtidos da concentração sérica de glicose (g/dL) numa população sadia, doente e sob efeito da adrenalina (excitação).

2. 6. Hematócrito ou Volume Globular (%)

O **hematócrito** (ou volume globular) é a percentagem de eritrócitos no sangue. Os métodos de centrifugação dão um volume de células sedimentadas, que corresponde a uma mensuração muito exata. É um dos exames mais úteis no estudo da série vermelha e com ele podemos obter inúmeras informações como: a coloração do plasma, a capa leucocitária, microfilárias e *Tripanossoma spp.*

O **plasma normal** é límpido e incolor (caninos e felinos) ou ligeiramente amarelado nos eqüinos e bovinos, devido ao caroteno e à xantofila presentes na alimentação dos herbívoros. Plasma icterico é amarelo e límpido; plasma hemoglobínico é límpido, variando de rosa a vermelho; plasma lipêmico é esbranquiçado e turvo.

Ao exame microscópico do plasma, podemos observar as microfilárias e tripanossomas logo acima da camada branca (capa flogística). As principais informações estão esquematizadas na figura 2.4.

O plasma obtido por este método pode ser empregado em outros exames, como concentração de proteínas plasmáticas totais e concentração de fibrinogênio plasmático, utilizando-se a precipitação pelo calor e refratometria.

Determinação

Princípio

Sedimentação dos elementos figurados do sangue, obtendo-se a proporção destes elementos em relação ao plasma.

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar;
- Pegar o tubo capilar (75mm x 1mm) e por capilaridade deixar o sangue preencher 2/3 do tubo;
- Fechar a extremidade seca em chama de bico de Bunsen, girando-se o tubo;
- Centrifugar o tubo a 1.200rpm (aproximadamente 1580G) por 5 minutos;
- Ler em tabela que acompanha centrífuga, obtendo-se o resultado em %.

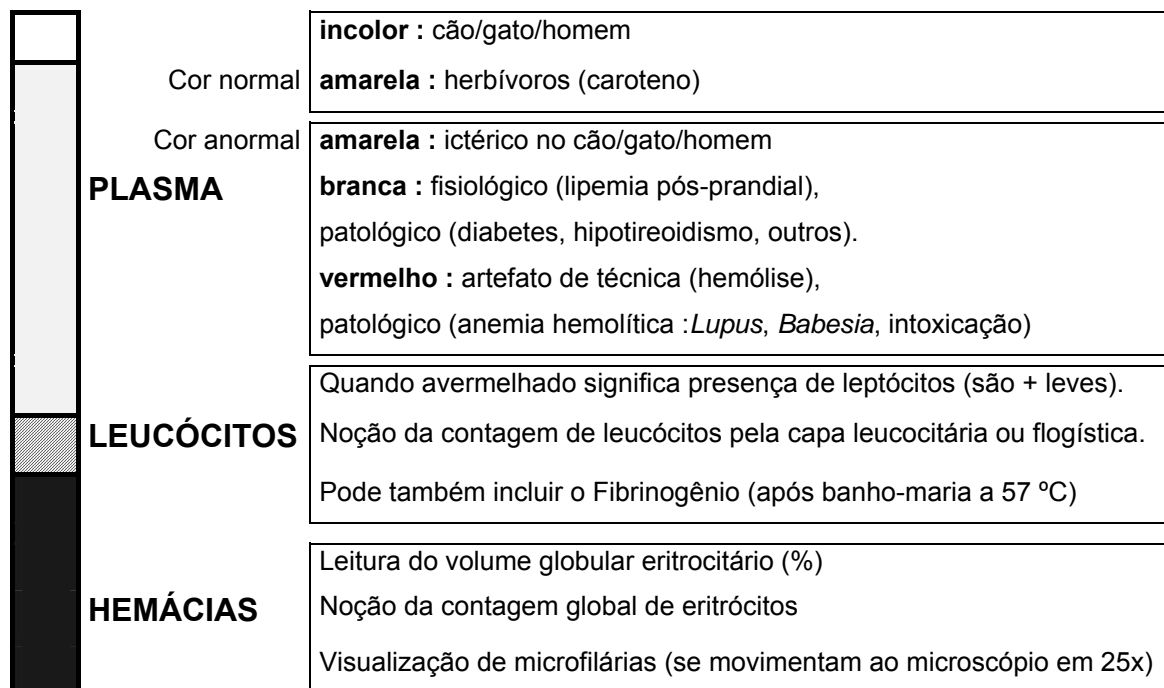


FIGURA 2.4. Desenho esquemático do capilar de microhematócrito.

Existem fatores que afetam o hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos, como anemias e alterações na hidratação, que podem refletir diretamente na proporção células vermelhas/plasma do sangue (figura 2.5).

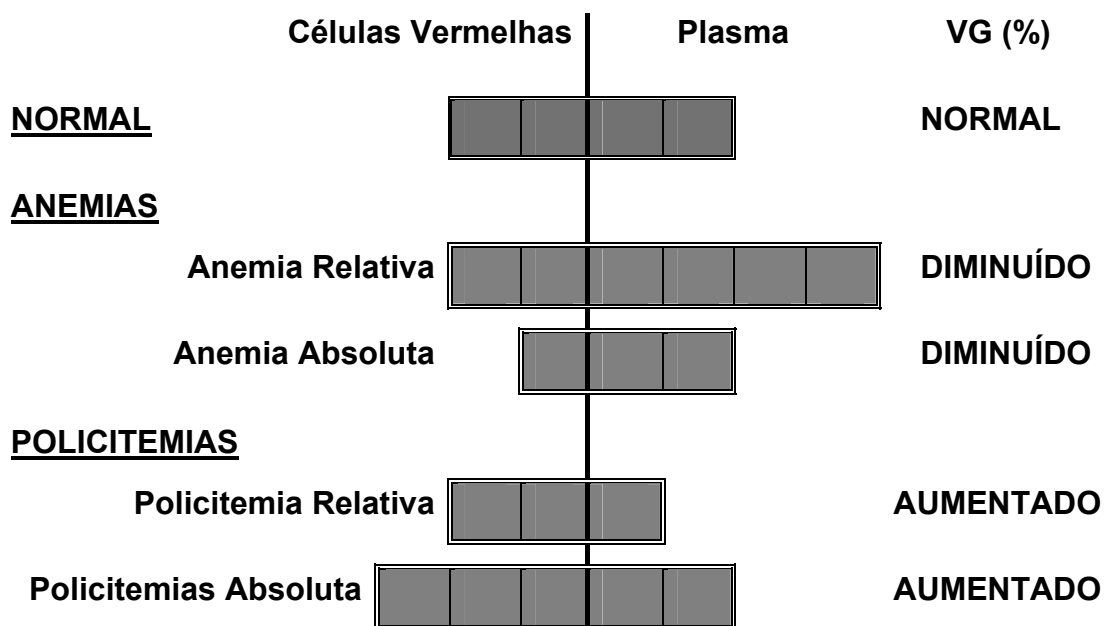


FIGURA 2.5. Curva Mudanças relativas ocasionadas na massa do eritrócito e volume de plasma nas anemias e policitemias (JAIN, 1993).

Fatores que afetam o hematócrito, hemoglobina e contagem de eritrócitos:

- Alterações na massa do eritrócito afetam os três parâmetros;
- A **anemia** produz valores baixos que podem ser desproporcionais se o tamanho celular e/ou o conteúdo de hemoglobina também estiverem alterados;
- A policitemia absoluta produz valores altos;
- A contração esplênica produz valores altos e é especialmente comum em cavalos excitados;
- **Alterações na hidratação** (volume plasmático) afetam os três parâmetros;
- Portanto o exame deve ser interpretado conhecendo-se o estado de hidratação do animal, através do exame físico e análise de proteínas plasmáticas totais;
- Desidratação produz valores altos;
- Hidratação excessiva causa redução no volume, o que pode estimular anemia.

2. 7. Atividade extra: interferências no hematócrito

Há uma série de fatores que podem interferir na correta obtenção do hematócrito nos animais domésticos. Você pode observar alguns deles sem riscos para os animais, seguindo o protocolo abaixo¹. Para esta atividade são necessários material de contenção dos animais e colheita de amostras, centrífuga de micro-hematócrito e refratômetro com escala para proteínas totais.

PROTOCOLOS	HCT (%)		PT (mg/dL)		Obs:
	Antes	Depois	Antes	Depois	
1. Cavalo: 20 minutos de exercício moderado					
2. Cão: Adrenalina 0,1 mg/kg PV por via IV					
3. Gato: Adrenalina 0,1 mg/kg PV por via IV					
4. Cão: Hidrocortisona 25 mg/kg PV por via IV*					
5. Altas quantidades de anticoagulante					
6. Não homogeneizar o sangue (cavalo)					

*Succinato sódico

Observe os resultados obtidos.

- Provavelmente você observou um **aumento** dos hematócritos nos protocolos n° 1, 2 e 3. No caso n° 1 isso ocorre devido ao **deslocamento sangüíneo esplênico**, mais visível no cavalo pois o seu baço é proporcionalmente maior que em outras espécies. Nos casos n° 2 e n° 3 o deslocamento foi resultado da ação simpática da adrenalina contraindo a musculatura vascular e esplênica. Como o hematócrito aumentou, isso mostra que o baço não é uma reserva de sangue, mas sim uma reserva concentrada (papa) de hemácias e plaquetas.
- Provavelmente você não observou alteração no caso n° 4, pois o cortisol não tem efeito perceptível imediato no hematócrito.
- No caso n° 5 voce observou hemodiluição pelo anticoagulante, ou seja, o sangue foi diluído e o hematócrito diminuiu. O tempo tende a aumentar o hematócrito, pois as hemácias se incham com a entrada de líquidos do plasma.
- O caso n° 6 varia. Se você introduziu o capilar no fundo do tubo, o hematócrito provavelmente aumentou, pois houve sedimentação do sangue. Se você introduziu o capilar na parte do sobrenadante, o hematócrito diminuiu. Isso é claramente observado nos cavalos, pois estes possuem uma alta **velocidade de hemossedimentação (VHS)**.
- Agora procure interpretar os resultados em associação às proteínas totais plasmáticas.

¹ Verifique antes se o uso de animais para esta aula possui aprovação no Comitê de Ética da sua Instituição. As doses de adrenalina e cortisol foram baseadas em prescrição terapêutica das mesmas.

PARTE 3: ERITROGRAMA II

3. 1. Reticulócitos

Os reticulócitos apresentam um grau variável de dobras membranosas e invaginações de superfície. Eles contêm **ribossomos, polirribossomos e mitocôndrias**, que os capacitam a sintetizar mais de **20% do conteúdo final de hemoglobina**. Estas estruturas contribuem para a policromasia dos reticulócitos.

Após coloração com **corantes supravitalis**, como o novo azul de metileno ou azul cresil brilhante, utilizado na contagem de reticulócitos, um arroxado de ribossomos, mitocôndrias e outras organelas citoplasmáticas aparecem nos reticulócitos como precipitados em forma de cordões (reticulócitos agregados) ou esparsos (pontilhados).

Os reticulócitos permanecem na medula óssea por dois a três dias antes de entrar no sangue por diapedese através de células endoteliais que contornam os sinusóides medulares. A sua liberação para o sangue é controlada por um número de fatores que agem em conjunto, incluindo a concentração de **eritropoietina**, deformabilidade capilar e carga de superfície.

Variações **interespecies** podem ocorrer em consideração ao número de reticulócitos liberado no sangue sob condições fisiológicas e patológicas. Por exemplo, o equino não libera reticulócitos para o sangue periférico, mesmo em anemia severa. Cães e gatos respondem vigorosamente com reticulocitose no sangue durante anemia regenerativa, porém os ruminantes geralmente apresentam uma resposta leve (tabela 3.1).

Os reticulócitos maturam-se em eritrócitos **24-48 horas na circulação ou no baço**, onde podem ser seqüestrados temporariamente. O processo de maturação envolve a perda de algumas superfícies de membranas, receptores para transferrina e fibronectina, ribossomos e outras organelas, obtenção da concentração normal de hemoglobina, organização final do esqueleto submembranoso, redução do tamanho celular e mudança de forma para o aspecto bicôncavo.

TABELA 3. 1. Grau de resposta da medula óssea segundo o percentual de reticulócitos

GRAU DE RESPOSTA	% de reticulócitos		
	Cães	Gatos (agregados)	Cavalos e Ruminantes
Normal	0 - 1,5	0 - 0,4	Ausentes
Leve	1 - 4	0,5 - 2,0	1 é sinal regenerativo
Moderada	5 - 20	3,0 - 4,0	-
Intensa	21 - 50	>50	-

A contagem de reticulócitos é o **melhor indicativo da atividade efetiva da eritropoiese medular**, mas sua contagem deve ser interpretada em relação às diferentes espécies.

A contagem de reticulócitos é calculada pelo percentual de reticulócitos contados em esfregaço sangüíneo obtido com um corante supravital e multiplicado seu resultado pela contagem global de eritrócitos. A percentagem de reticulócitos pode ser corrigida para o grau de anemia pela seguinte fórmula:

Reticulócitos corrigidos (%) =		% reticulócitos x	VG paciente
			VG médio normal*
			*37% para o gato e 45% para o cão
Contagem de reticulócitos (/μL) =		% reticulócitos x total eritrócitos	/μL

Por exemplo: Um cão tem um VG de 28%, contagem de eritrócitos de $4,4 \times 10^6 / \mu\text{L}$ e contagem de reticulócitos de 15%, aplicando a fórmula teríamos:

$$\text{\% de reticulócitos corrigida} = 15\% \times \frac{28}{45} = 9,3$$

Uma contagem corrigida de reticulócitos acima de 1% em cães e gatos (agregados) indica eritropoiese ativa (anemia regenerativa). Usualmente há necessidade de um período de 3 a 4 dias para que uma significativa reticulocitose, seja encontrada no sangue periférico após uma hemorragia aguda e a resposta máxima pode levar de 1 a 2 semanas ou mais. Em uma anemia hemolítica severa, entretanto, uma rápida liberação de reticulócitos pode levar somente 1 ou 2 dias e ser seguida de uma intensa eritropoiese.

Após hemorragias a resposta da medula óssea pode ser avaliada a partir do 3º dia após a perda de sangue, pois este é o tempo mínimo necessário para a liberação de células jovens após a hipóxia.

Em quadros agudos a avaliação clínica do grau de anemia e estimativa de perdas é muito mais útil que os parâmetros laboratoriais isolados; deve-se, inicialmente, estabilizar o paciente com transfusão e fluidoterapia.

Reticulócitos e eritrócitos jovens ocasionalmente podem manifestar uma morfologia adicional. A fragmentação nuclear ou extrusão incompleta dos núcleos dos metarrubricitos resultam na retenção de núcleo pequeno remanescente chamado corpúsculo de Howell-Jolly. O corpúsculo de Howell-Jolly é removido do reticulócito quando este passa no baço e muitas vezes é encontrado em indivíduos esplenectomizados ou quando a função do baço está comprometida.

3. 2. Regulação da Eritropoiese: eritropoietina

O estímulo fundamental para a eritropoiese é a tensão tecidual de oxigênio (PO_2). A hipóxia tecidual desencadeia a produção de eritropoietina, um fator humoral especificamente responsável pela produção de eritrócitos. É produzida pelos rins (células corticais endoteliais, glomerulares e intersticiais) e em menor proporção pelo fígado (células de Kupffer, hepatócitos e células endoteliais). O rim é considerado a única fonte de eritropoietina no cão e o fígado é o sítio predominante no feto. A eritropoietina é gerada pela ativação do eritropoietinogênio, uma alfa-globulina, pelo fator eritropoiético renal ou eritrogenina, ou pela ativação da proeritropoietina, produzida no rim, por um fator plasmático (figura 3.1). A eritropoietina estimula a eritropoiese em várias etapas, pela indução da diferenciação de progenitores eritróides (UFC-E) até rubriblastos, estimulando a mitose de células eritróides e reduzindo seu tempo de maturação e aumentando a liberação de reticulócitos e eritrócitos jovens ao sangue periférico.

Vários órgãos endócrinos influenciam a eritropoiese, através de seus efeitos na síntese de eritropoietina. A pituitária media estes efeitos através da produção de TSH, ACTH e hormônio do crescimento; as adrenais através da produção de corticosteróides; as glândulas tireóides através da produção de tiroxina; e as gônadas através da produção de andrógenos e estrógenos. A única influência negativa é a do estrógeno.

Em conjunto com a eritropoietina a IL-3 produzida por linfócitos T; o FEC-GM por linfócitos T, células endoteliais e fibroblastos; e o FEC-G por macrófagos, granulócitos, células endoteliais e fibroblastos estimulam a multiplicação de uma célula progenitora eritróide jovem, a unidade formadora de explosão eritróide (UFE-E) e sua diferenciação na célula progenitora da UFC-E. A UFE-E é relativamente insensível a eritropoietina sozinha. Doses farmacológicas de andrógenos aumentam a taxa de glóbulos vermelhos, estimulando a produção de eritropoietina ou potencializando sua ação, por isso, machos apresentam maior número de eritrócitos que as fêmeas. Os estrógenos, por sua vez, apresentam efeito inibitório sobre a eritropoiese. Hormônios tireoidianos, hipofisários e adrenocorticais alteram a demanda de oxigênio nos tecidos, alterando a necessidade de eritropoiese.

Para que ocorra a adequada multiplicação eritrocitária, há necessidade também de substrato para possibilitar a divisão celular, principalmente material nucléico. Os substratos que constituem maior importância são: a vitamina B₁₂, o ácido fólico, o cobalto e o ácido nicotínico. Na fase de maturação eritrocitária, o RNA mensageiro encarrega-se da hemoglobinizacão citoplasmática. Nesta fase são importantes o ferro na forma ferrosa, o cobre e a piridoxina.

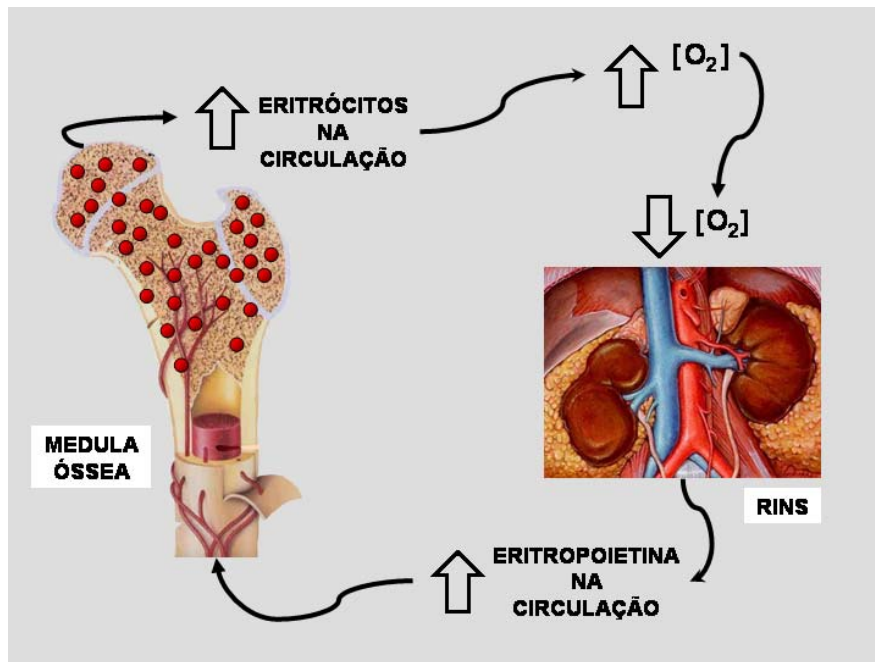


FIGURA 3. 1. Ativação e efeito da Eritropoietina nos animais domésticos.

Para uma adequada eritropoiese há o requerimento de suprimento contínuo de nutrientes como vitaminas e minerais. A deficiência destes fatores por qualquer causa levará a anemia. Uma causa comum de anemia é a deficiência de ferro. Anemias nutricionais no homem e nos animais são aquelas causadas por deficiências de proteínas, vitamina B₁₂, folato, niacina, vitamina E, selênio, cobre e cobalto.

3. 3. Destruição Eritrocitária

A duração média da vida do eritrócito varia com a espécie animal. Abaixo estão representados o número, o tamanho e a vida média das hemácias, de acordo com a espécie animal (tabela 3.2).

TABELA 3. 2. Número total, tamanho e vida média das hemácias nas diferentes espécies animais

ESPÉCIE	NÚMERO TOTAL (milhões/mm ³ ou μ L)	TAMANHO (μ m de diâmetro)	VIDA MÉDIA (dias)
Canino	6-8	7,0	120
Felino	5-10	5,8	70
Eqüino	9-12	5,7	150
Bovino	5-10	5,5	160
Ovino	9-15	4,5	100
Caprino	8-18	4,0	100
Suíno	5-8	6,0	65

No estado de saúde normal, o eritrócito deixa a circulação por duas vias: fagocitose por macrófagos, que é a principal e a lise intravascular, com liberação de hemoglobina.

A deformabilidade é importante na sobrevivência da hemácia e depende da manutenção da sua forma, fluidez normal interna da hemoglobina e propriedades visco-elásticas intrínsecas da membrana. Qualquer mudança nestas características pode ativar a destruição fagocitária por macrófagos, o que ocorre primariamente no baço e fígado, podendo também ocorrer na medula óssea. Os macrófagos iniciam a fagocitose após reconhecerem anticorpos IgG aderidos a antígenos de membrana em eritrócitos danificados e/ou envelhecidos. A perda de eritrócitos é continuamente balanceada por uma liberação de reticulócitos ou células jovens da medula óssea para o sangue periférico. Neste caso, os reticulócitos são importantes em casos de anemia, para que se classifiquem as anemias em regenerativa ou arregenerativa. Em casos de babesiose, no quarto ou quinto dia estas células começam a aparecer no sangue periférico.

3. 4. Hemoglobina

Trata-se de uma proteína conjugada formada de 96% de proteínas (globinas) e por um grupo prostético de coloração vermelho chamado heme (4%), o qual é formado por ferro e grupamentos porfirínicos.

A produção hemoglobínica ocorre no citoplasma das células nucleadas precursoras de eritrócitos. O ferro obtido pelas células eritróides no processo normal de eritropoiese provém dos macrófagos adjacentes que, por sua vez, recebem o ferro por endocitose da ferritina, uma proteína transportadora, por meio de um processo chamado rofeocitose. As moléculas de ferritina consistem em milhares de átomos de ferro envolvidos por uma proteína (apoferritina). A ferritina pode ser visualizada como partículas densas, localizadas na membrana celular ou no citoplasma de células eritróides e macrófagos. A ferritina é degradada e convertida a hemossiderina pela ação das enzimas lisossomais intracelulares nos macrófagos. A ferritina é hidrossolúvel enquanto que a hemossiderina não, porém ambas servem como estoques de ferro que são mobilizados para a síntese da heme. Em anemias ocasionadas por doenças crônicas, os estoques de ferro estão aumentados, pois há um seqüestro nos macrófagos do SMF.

Na formação deficiente de hemoglobina, intervêm fundamentalmente três fatores:

1. *deficiência de ferro por ingestão deficiente ou absorção anormal deste elemento;*
2. *interferência na atividade normal das células macrófágicas (SRE) que produzem normalmente a hemoglobina. Isto ocorre nos envenenamentos por metais, toxemias, neoplasias e nefrites, entre outras causas;*
3. *Anormalidades renais que interferem na formação da eritropoietina.*

A hemoglobina é liberada na forma livre quando ocorre hemólise, onde a união entre a hemoglobina e o estroma eritrocitário quebram-se pela ação do agente hemolítico. A hemoglobina livre no plasma é rapidamente decomposta por oxidação, liga-se a haptoglobina e é rapidamente excretada pelos rins, observando-se hemoglobinúria, ou ainda é destruída pelo sistema fagocitário mononuclear (SMF). A hemoglobina confere a cor avermelhada do plasma e esta condição é chamada de hemoglobinemia. O excesso livre é oxidado em meta-hemoglobina, que se dissocia, liberando hematina. A hematina liga-se a hemopexina e albumina sucessivamente, e estes complexos são removidos pelos hepatócitos.

Nos macrófagos, o ferro da fração heme e os aminoácidos da fração globina são reciclados para uso. A protoporfirina é degradada em biliverdina pela heme microssomal oxigenase; a biliverdina é então convertida à bilirrubina pela bilirrubina redutase. As aves excretam somente biliverdina, pois não possuem bilirrubina redutase.

A bilirrubina liberada no plasma é ligada à albumina para o transporte até as células hepáticas, onde é conjugada em ácido glicurônico pela enzima UDP-glucuronil transferase. A bilirrubina conjugada é normalmente secretada através dos canalículos biliares e excretada pela bile na luz intestinal. No trato intestinal a bilirrubina é degradada a urobilinogênio para a sua excreção nas fezes, com reabsorção parcial para a circulação geral e re-excreção biliar no ciclo entero-hepático da bile. Uma pequena quantidade de bilirrubina conjugada e urobilinogênio normalmente escapam à re-excreção hepática e são eliminados na urina (figura 3.2) e quantidades aumentadas são muitas vezes excretadas naqueles animais com doença hepática.

As duas formas de bilirrubina no plasma são chamadas de bilirrubina livre ou indireta, ligada à albumina e bilirrubina conjugada ou direta. A bilirrubina não conjugada não é filtrada pelo rim, somente a conjugada. O acúmulo de bilirrubina no sangue leva a icterícia. Na anemia hemolítica a maioria da bilirrubina no sangue está na forma não conjugada, sendo que, na obstrução extra-hepática do ducto biliar esta é amplamente conjugada e, ambas as formas em doença hepatocelular.

A concentração de bilirrubina no plasma do cavalo é alta, comparada com outras espécies, e a maior parte está na forma não conjugada. A concentração de bilirrubina, no cavalo, aumenta durante anorexia e condições febris por causa da estrutura hepática. Também é alta a concentração de bilirrubina, nesta espécie, ao nascimento, assim permanecendo nos potros. No entanto, a causa precisa da hiperbilirrubinemia neonatal em animais é desconhecida, observação semelhante em neonato humano indica que vários mecanismos estão envolvidos. Estes incluem a perda do mecanismo excretório placentário da bilirrubina, um nível baixo da atividade de UDP-glucuroniltransferase no fígado do neonato e uma maior concentração de β -glucuronidase no intestino, o qual degrada a bilirrubina conjugada à bilirrubina livre que é reabsorvida.

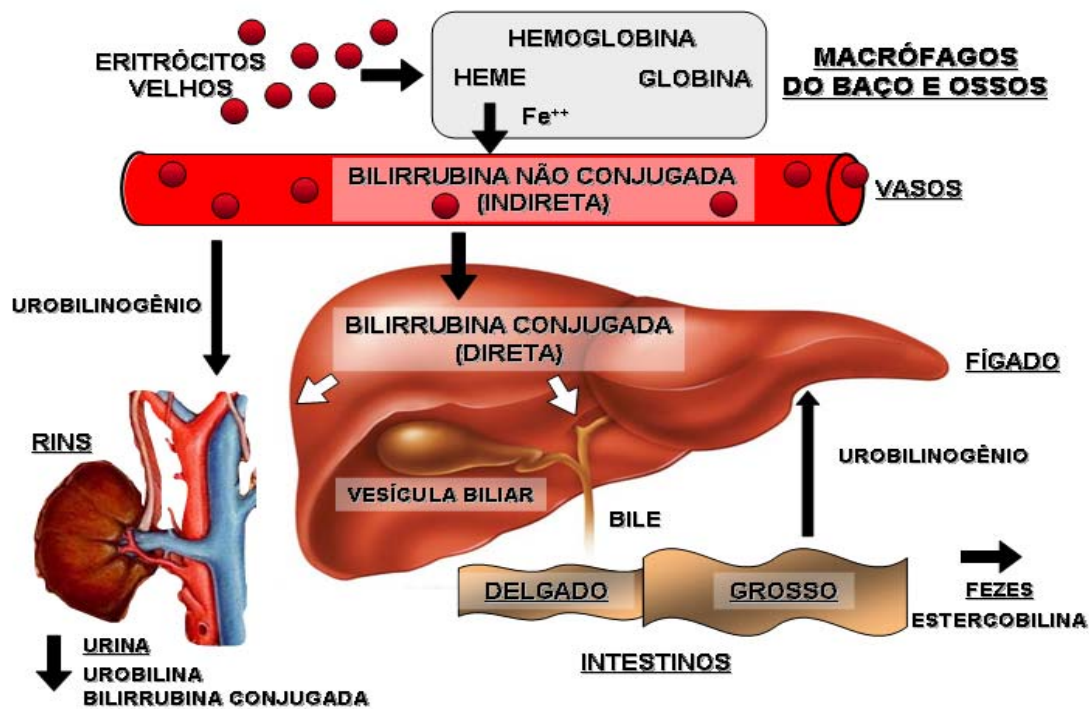


FIGURA 3. 2. Esquema do catabolismo normal da hemoglobina.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 3: esfregaço sangüíneo

3. 5. Preparo do esfregaço e coloração

Esfregaço

- Preparar duas lâminas novas e desengorduradas, sendo uma com os cantos arredondados;
- Homogeneizar o sangue no frasco de colheita fechado, por inversão, e colocar com o capilar do micro-hematócrito, antes de fechá-lo, uma gota de sangue na lâmina;
- Colocar a outra lâmina (recortada) a frente da gota de sangue, num ângulo de 45°. Fazer um ligeiro movimento para trás até o sangue espalhar-se pela lâmina;
- Com um movimento uniforme, para frente, fazer esta lâmina deslizar sobre a outra. O sangue se estenderá por sobre a lâmina, formando o esfregaço (figura 3.3);
- Agitar a lâmina até secar o esfregaço completamente e identificá-lo com lápis na borda mais espessa do esfregaço.

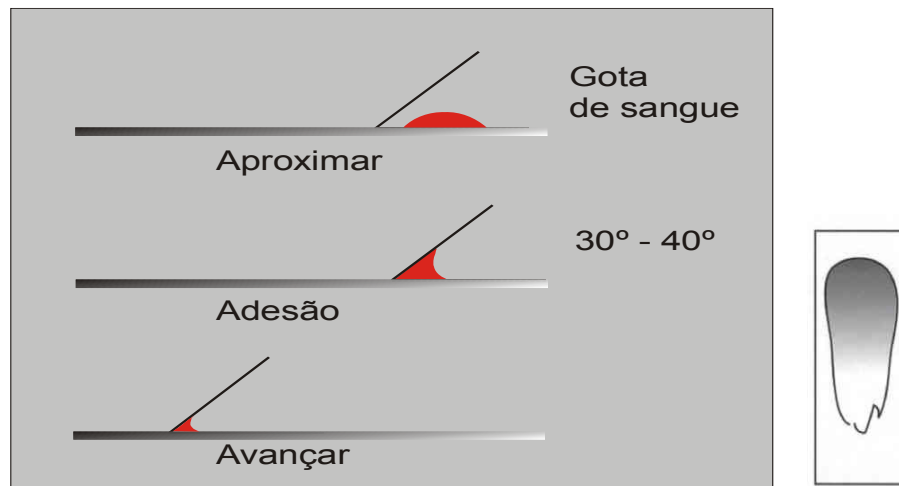


FIGURA 3.3. Demonstração de como se faz um esfregaço de sangue.

Corantes

A. Leishmann

- Preparo:

- Diluir 1,5g de Eosina-Azul de Metileno segundo Leishmann em 1 litro de metanol;
- Colocar em banho-maria a 37 °C por 24 horas. Acondicionar em frasco âmbar;
- Maturar o corante deixando-o em repouso por 1 semana, ao abrigo da luz;
- Corrigir o pH, se necessário, para 7,6;
- Filtrar e usar.

- Uso:

- Colocar 20 gotas do corante e deixar agir por 3 minutos;
- Acrescentar 20 a 25 gotas de água destilada tamponada (pH \pm 7,2);
- Deixar agir por 15 minutos;
- Lavar em água corrente e secar.

B. Panótico

Solução comercial pronta para uso com três corantes em série.

3. 6. Morfologia dos Eritrócitos

• Tamanho

Normal: célula grande em caninos, sendo que os caprinos apresentam a menor hemácia das espécies domésticas.

Anisocitose: é a diferença de tamanho entre as hemácias. Quanto mais grave a anemia, maior a ocorrência de anisocitose.

Macrocitose: predominância de hemácias grandes, geralmente jovens, recém-produzidas. Presente em reticulocitose, metarrubricitos, hipertireoidismo, deficiência de fatores de multiplicação, determinadas raças, animais jovens.

Microcitose: predominância de hemácias pequenas. Ocorre em anemias crônicas, principalmente ferropriva. Quanto maior a quantidade, mais grave. É fisiológica em animais idosos e algumas raças.

• Forma

Bicôncava: normal.

Esferócitos: hemácias com formas esféricas, com intensa coloração pela perda de conteúdo de membrana sem perda de hemoglobina devido a eritrofagocitose parcial dos anticorpos e/ ou complemento dos eritrócitos pelos macrófagos do sistema fagocitário mononuclear. Presente em anemia hemolítica auto-imune primária ou induzida por drogas ou transfusão incompatível.

Poiquilócitos: são alterações na forma das hemácias. No baço, devido a microcirculação esplênica, a hemácia muda de forma o que ocorre pela existência de glicoproteínas na membrana do eritrócito. Podem ser removidos prematuramente da circulação, levando a

uma anemia hemolítica. Existem vários tipos de poiquilócitos, entre eles:

Equinócitos: são hemácias espiculadas, com várias projeções regulares. Ocorrem em amostras velhas, uremia, excesso de EDTA, coagulação intravascular disseminada (CID).

Acantócitos: projeções irregulares e variadas. Ocorrem em cães com hiperbilirrubinemia, associados a hemangiossarcoma ou hemangioma esplênico e doença hepática difusa, shunts porto-cava e dietas altas em colesterol.

Esquisócitos: fragmentos irregulares das hemácias. Ocorrem em falha renal, mielofibrose, glomerulonefrite, deficiência crônica de ferro, fluxo sanguíneo turbulento.

Leptócitos: aumento do diâmetro e redução na espessura. Quando hipocrômicos ocorre por produção reduzida de hemoglobina (anemia ferropriva); quando há policromasia, consistem em reticulócitos (indica regeneração); quando há ortocromia, indicam anemia arregenerativa. O mais comum é a aparência em alvo.

Dacriócitos: hemácias em forma de gota. Aparecem em mielofibrose ou desordens mieloproliferativas.

Crenação: hemácias em forma de engrenagem. Comum em bovinos, artefato de técnica ou desidratação em outras espécies.

- **Coloração**

Vermelho-claro: normal ao microscópio óptico (1000x).

Policromasia: algumas hemácias apresentam-se mais coradas que outras (RNA residual), representando os reticulócitos. O aumento está associado a atividade eritropoiética aumentada e resposta à anemia regenerativa. A ocorrência de algumas células policromáticas é comum no cão e no gato.

Hipocromia: hemácias com intensidade de coloração reduzida e área central pálida aumentada, causada por insuficiente hemoglobina na célula, sendo a etiologia mais comum deficiência de ferro.

3. 7. Contagem de Reticulócitos

- Colher amostra de sangue com EDTA, homogeneizar adequadamente;
- Colocar em tubo de ensaio 0,5mL de sangue fresco;
- Adicionar 0,5mL do corante (Azul de Cresil Brilhante ou Novo Azul de Metileno);
- Homogeneizar a solução;
- Levar ao banho-maria por 15 minutos (37°C);
- Retirar o tubo do banho-maria, agitar e fazer o esfregaço em lâmina;
- Contar os reticulócitos em no mínimo dez campos e realizar a leitura em % dos demais eritrócitos. Caso necessário fixar em lamínula;
- Pode-se contra-corar a lâmina com corantes de rotina (ex: panótico), para se obter uma melhor visualização dos reticulócitos.

3. 8. Atividade extra: hemácias nas aves, peixes, répteis e anfíbios

Ao contrário dos mamíferos, as hemácias adultas das aves, peixes, répteis e anfíbios são normalmente nucleadas². Apesar disso, embora exija mais atenção em sua contagem, estas espécies também possuem reticulócitos. Siga o protocolo padrão de contagem de reticulócitos e observe a impregnação à margem do núcleo das hemácias nestas espécies.

² Verifique antes se o uso de animais para esta aula possui aprovação no Comitê de Ética da sua Instituição.

PARTE 4: ANEMIAS E POLICITEMIAS

4. 1. Anemias

A anemia é definida como a presença de eritrócitos, concentração de hemoglobina e/ou hematócrito abaixo dos valores normais de referência.

Constitui-se raramente em uma doença primária; geralmente é o resultado de um processo (doença) generalizado. Portanto, é necessário que se conheça a causa da anemia para que o tratamento racional seja empregado, pois ele não é direcionado, por si só, para a anemia, exceto como uma medida de emergência.

Sinais Clínicos

Os sinais clínicos da anemia resultam da reduzida capacidade de o sangue carrear oxigênio e de certos ajustes fisiológicos para aumentar a eficiência da reduzida massa de eritrócitos circulantes e reduzido trabalho do coração. Assim, o desenvolvimento de vários sinais clínicos depende do grau e da causa da anemia. Os mais comuns são dispnéia, intolerância ao exercício, palidez das mucosas, aumento da frequência cardíaca, algumas vezes acompanhada de murmúrios (sopro sistólico), aumento da frequência respiratória e depressão. Na anemia hemolítica aguda incluem-se ainda icterícia, hemoglobinemia, hemoglobinúria e febre. Na perda crônica de sangue, o organismo consegue manter a homeostase circulatória e em alguns casos, mesmo com menos de 50% da hemoglobina normal, o animal pode não apresentar sinais clínicos.

4. 2. Classificação das anemias

A anemia pode ser classificada como **relativa** ou **absoluta**, em termos de massa total de eritrócitos. A anemia **relativa** pode se desenvolver pela expansão do volume plasmático, como em fêmeas gestantes e neonatos ou após fluidoterapia. A anemia **absoluta** é clinicamente importante e merece ampla investigação. Trata-se da forma mais comum de anemia, e é classificada de acordo com a morfologia dos eritrócitos, mecanismos patogênicos e resposta eritróide da medula óssea. Embora nenhum destes fatores seja completamente satisfatório quando considerado isoladamente, eles são complementares, e juntos proporcionam meios lógicos de se analisar a anemia. O objetivo de se classificar as anemias em vários tipos é determinar possíveis mecanismos patofisiológicos e causas prováveis. Anemia por uma causa particular pode envolver mais de um mecanismo patogênico (por exemplo, componente hemolítico como supressão da eritropoiese). Uma prática comum é avaliar inicialmente um hemograma para se classificar a anemia morfológicamente com base no VCM (volume corpuscular médio) e no CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média). Evidência de reposição medular à anemia é então obtida através da determinação do grau de reticulocitose ou policromasia no sangue.

A. Classificação etiológica ou mecanismo patogênico

A anemia pode ocorrer por **perda de sangue** (hemorragias), **destruição acelerada dos eritrócitos** ou **diminuição na produção eritrocitária** que é a hipoplasia ou aplasia da medula óssea, incluindo a utilização deficiente de nutrientes essenciais para a produção de eritrócitos.

A **hemorragia** pode ser aguda ou crônica. A hemorragia aguda pode ser causada por traumas, úlceras gastro-intestinais, cirurgias, defeitos na hemostasia (intoxicação por warfarina, samambaia e outros), enquanto que as causas de hemorragia crônica podem ser: parasitismo, úlceras gastro-intestinais, hematúria, neoplasias, etc.

Os achados laboratoriais nas anemias por perda de sangue incluem: resposta regenerativa, a qual ocorre após dois a três dias; redução na concentração de proteína plasmática total, se a hemorragia for externa, pois deste modo não há reutilização de certos componentes (ferro e proteína plasmática), os quais podem ser reabsorvidos na hemorragia interna.

Poucas horas após a perda de sangue os valores do eritrograma permanecem normais, embora ocorra o movimento intravascular de fluido para o espaço extravascular, assim a anemia não é evidente nos primeiros momentos da perda aguda de sangue. A expansão do volume plasmático para um nível normal é indicada devido à diminuição da

concentração de proteínas plasmáticas, seguida pela diminuição dos parâmetros do eritrograma. Esta redução da proteína é evidente em uma hora após a perda aguda. Se continuar a hemodiluição, há uma significativa queda nos valores do eritrograma e proteínas plasmáticas em quatro horas. A amostra de sangue colhida um ou dois dias após hemorragia revela anemia normocítica normocrômica acompanhada por hipoproteïnemia. A resposta dos reticulócitos ocorre após três dias. A concentração de proteína tende a aumentar em dois a três dias e geralmente retorna ao normal em cinco a sete dias antes dos parâmetros dos eritrócitos terem sido restaurados. Persistindo a proteína reduzida, sugere uma continuidade da perda de sangue.

A anemia por **destruição acelerada** dos eritrócitos é causada pela **hemólise**, que pode ser intra ou extravascular (fagocitose). A hemólise intravascular pode ser causada por bactérias como *Clostridium perfringens* tipo A ou C, *Clostridium hemolyticum*, *Leptospira sp*; produtos químicos como a fenotiazina, cebola, azul de metileno, cobre; imunomediada, causada por transfusão incompatível ou isoeritrolise neonatal. A hemólise extravascular é causada por parasitas de eritrócitos, como por exemplo, *Mycoplasma haemofelis*, *Anaplasma sp*, *Eperythrozoon sp*; imunomediada, como AHA (anemia hemolítica auto-imune), lúpus eritematoso, anemia infecciosa equina; defeitos eritrocíticos intrínsecos, como deficiência da enzima piruvato quinase.

Os achados laboratoriais presuntivos de anemia hemolítica são: resposta regenerativa, se o tempo for suficiente para apresentar esta resposta da medula óssea; concentração normal de proteína; leucocitose neutrofílica com desvio à esquerda, devido ao estímulo da medula óssea; hiperbilirrubinemia, hemoglobínúria e hemoglobinemia (na hemólise intravascular); coloração vermelha do plasma; hiperbilirrubinemia (cor amarela do plasma) associada com uma diminuição do VG sugere uma fagocitose aumentada dos eritrócitos. Observa-se a lâmina, buscando-se evidências de parasitas eritrocitários, eritrócitos fragmentados, esferócitos e corpúsculos de Heinz.

B. Classificação patofisiológica

I. Perda sanguínea ou anemias hemorrágicas

- Aguda

- Procedimento cirúrgico ou traumas;
- Lesões hemostáticas, desordens da coagulação, deficiência de vit. K (dicumarol, warfarin), CID.

- Crônica

- Lesões gastrointestinais (neoplasias, úlceras, parasitismo);
- Neoplasias com sangramento cavitário (hemangiossarcoma no cão);
- Trombocitopenias;
- Parasitas (carrapatos, pulgas, parasitas gastrointestinais).

II. Destruição acelerada dos eritrócitos

- Parasitas sanguíneos, vírus, bactérias e riquetsias (podem ter um componente imunomediado), incluindo *Anaplasma sp*, *Babesia sp*, *Mycoplasmas (Haemobartonella, Eperythrozoon)*, *Ehrlichia sp*, *Clostridium sp*, *Cytauxzoon felis*, *Leptospira sp*, mastite estafilocócica e Anemia Infecciosa Equina;
- Drogas e químicos (muitos são oxidantes): fenotiazina; acetaminofen, em gatos e cães; azul de metileno, em gatos e cães; vitamina K, em cães; cobre, chumbo, zinco;
- Plantas tóxicas (muitas são oxidantes) e acidentes ofídicos;
- Doenças metabólicas - falha hepática, hiperesplenismo, no cavalo e torção esplênica;
- Defeitos intraeritrocitários - deficiência da piruvato quinase em cães e gatos, deficiência da fosfofruto quinase em cães, deficiência da glicose-6-fosfatase desidrogenase no cavalo;
- Destruição imunomediada do eritrócito – anemia hemolítica imunomediada (AHIM) primariamente em cães, isoeritrolise neonatal, primariamente em cavalos e gatos, Lúpus eritematoso, primariamente em cães, reação transfusional, penicilina e cefalosporina;
- Outras causas - intoxicação por água em bovinos, administração de fluido hipotônico em grandes animais.

III. Diminuição da produção dos eritrócitos (eritropoiese reduzida)

- Doença renal crônica: falta de eritropoietina;
- Proteínas: deficiência protéica;
- Minerais: deficiências em ferro, cobre, cobalto, selênio;
- Vitaminas: deficiência em vitaminas A, E, B₁₂, ácido fólico, niacina, piridoxina, tiamina e ácido ascórbico;
- Doença inflamatória: inflamação crônica e neoplasia;
- Deficiências endócrinas: hipotireoidismo, hipoadrenocorticism, hipo-androgenismo;
- Dano citotóxico da medula óssea;
- Drogas anticâncer citotóxicas, toxicidade por estrógeno, cloranfenicol, fenilbutazona, trimetoprim-sulfadiazina, radioterapia;
- Agentes infecciosos: *Ehrlichia sp*, FeLV, tricostrongilóides, parasitas não sugadores de sangue nos ruminantes;
- Mielopatias: leucemias mielógenas, leucemias linfóides, mieloma múltiplo, linfoma metastático e mastocitoma;
- Doenças imunomediada;
- Aplasia seletiva eritróide em cães.

IV. Eritropoiese ineficaz

- Desordem da síntese da fração Heme: deficiência do ferro, cobre e piridoxina;
- Desordem da síntese do ácido nucléico: deficiência de folato e vitamina B₁₂.

C. Classificação morfológica das anemias

As anemias podem ser classificadas com base nos índices eritrocitários, levando-se em consideração o tamanho e a morfologia das hemácias. Os termos usados para o tamanho são: normocítica (normal), macrocítica (maior) ou microcítica (pequena) e para as propriedades tintoriais da hemoglobina normocrômica (normal) e hipocrômica (diminuída). Os índices eritrocitários são: volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Esta classificação pode ser confirmada pelo exame microscópico da população eritrocitária, mas devemos considerar que não é específica para a causa da anemia, no entanto é útil quanto ao mecanismo patofisiológico o que ajuda na seleção do protocolo de tratamento. Os valores de VCM e CHCM podem ser calculados conforme fórmulas a seguir:

VCM =	VG (%) x 10
(fentolitros)	Hemácias (Milhões/μL)

CHCM=	VG (%)
(%)	Hemoglobina (g/dL) x 100

A anemia **macrocítica normocrômica** em humanos é característica de deficiência de vitamina B₁₂ e ácido fólico e em bovinos, na deficiência de cobalto ou pastagem rica em molibdênio. A anemia resulta de uma assincronia da eritropoiese causada por alterações na maturação no estágio de pró-rubricito a rubricito basofílico, produzindo eritrócitos megaloblásticos na medula óssea. Em cães poodle os eritrócitos macrocíticos normocrômicos não são acompanhados por anemia.

A anemia **macrocítica hipocrômica** é tipicamente observada durante remissão em perda aguda de sangue ou hemólise aguda. O grau de macrocitose e hipocromia depende da severidade da anemia, associada à intensidade da resposta eritropoiética medular, o que leva a reticulocitose sangüínea. A reticulocitose em resposta à anemia aumenta o VCM e reduz o CHCM. Entretanto, muitos dias devem passar desde a manifestação da anemia antes da alteração da morfologia eritrocítica se mostrar aparente.

A anemia **normocítica normocrômica** ocorre pela depressão seletiva da eritropoiese em doenças crônicas como infecções, doença renal crônica, malignidades e certas desordens endócrinas. Nestes casos, a resposta de reticulócitos está ausente ou insignificante. Os esforços devem ser direcionados mais para o diagnóstico da doença primária do que para o tratamento da anemia, uma vez que o uso de hematínicos está contra-indicado, pois o tecido eritropoiético não pode fazer uso destas substâncias.

A anemia **microcítica hipocrômica** resulta de deficiência de ferro ou incapacidade de utilização do ferro para a síntese da hemoglobina. Alterações na morfologia dos eritrócitos

dependem da duração e severidade da anemia. Na anemia microcítica a divisão celular é normal, mas a síntese da hemoglobina é demorada com anormalidades na síntese do heme e da globina, ocorrendo uma ou mais divisões extras, durante o desenvolvimento das células eritróides, resultando na formação de micrócitos. Outras causas de anemia microcítica são: doenças inflamatórias, devido aos mediadores inflamatórios que, direta ou indiretamente, inibem a eritropoiese, reduzem o ferro no soro e encurtam a expansão de vida dos eritrócitos; deficiência de piridoxina; deficiência de cobre, o que resulta em uma deficiência funcional de ferro devido à mobilização inadequada dos estoques de ferro, causada pela diminuição na concentração de ceruloplasmina circulante, a maior proteína que contém ferro no plasma; toxicidade por drogas (cloranfenicol) ou químicos (chumbo), pois estes agentes bloqueiam a síntese do heme, formando eritrócitos microcíticos. Na tabela 4.1. está representada a classificação morfológica das anemias.

TABELA 4.1. Classificação morfológica das anemias

VCM	CHCM	Características
MACROCÍTICA	HIPOCRÔMICA	Sempre regenerativas Perda aguda de sangue/anemia hemolítica aguda
	NORMOCRÔMICA	Anemias não regenerativas (diminuição do CHCM ainda não está presente) Def. ác. fólico, FeLV (sem nenhuma reticulocitose), eritroleucemia, def. Vitamina B ₁₂
MICROCÍTICA	HIPOCRÔMICA	Deficiência de Ferro por perda: - Perda crônica de sangue: tumores, úlceras. - Parasitas: <i>Ancylostoma</i> , <i>Haemonchus</i>
		Deficiência de ferro por fatores que atuam no seu uso - Piridoxina, riboflavina, cobre
MICROCÍTICA	NORMOCRÔMICA	Doença crônica
NORMOCÍTICA	NORMOCRÔMICA	Hemorragia e hemólises aguda - sem tempo para a resposta, def. de ferro (antes de predominar micrócitos), inflamação e neoplasias crônicas, def. endócrinas, aplasia eritróide seletiva, hipoplasia e aplasia da medula óssea, intoxicação por chumbo, pode não estar anêmico

D. Classificação baseada na resposta medular

A eritropoiese é regulada pela eritropoietina, que é produzida primariamente pelos rins em resposta a hipóxia tecidual. A síntese de eritropoietina é inversamente proporcional à massa de eritrócitos e concentração de hemoglobina. A eritropoiese é estimulada pelo recrutamento de células progenitoras, mitose acelerada e maturação de células eritróides e rápida entrada de reticulócitos ou células jovens para a circulação. A liberação de grandes reticulócitos (estresse) no sangue pode estar acompanhada pela liberação de um pequeno número de células vermelhas nucleadas.

Baseado na resposta eritropoiética medular evidente no sangue periférico, as anemias podem ser classificadas como **regenerativas** ou **arregenerativas**. Esta é útil na diferenciação de perda sangüínea e anemias hemolíticas (geralmente regenerativas) de anemias por depressão (arregenerativas) (tabela 4.2).

Na anemia regenerativa o eritrograma apresenta elementos que revelam regeneração ou resposta medular, que são: reticulocitose, anisocitose e policromasia, podendo encontrar-se, muitas vezes, presença de metarrubricitos, principalmente no cão e no gato e corpúsculos de Howell-Jolly. São necessários dois a três dias para uma resposta regenerativa tornar-se evidente no sangue.

A anemia arregenerativa, por sua vez, é causada por lesões na medula óssea ou ausência de elementos necessários para a produção de eritrócitos. Este tipo de anemia apresenta curso clínico crônico e início lento, é acompanhada de neutropenia e trombocitopenia. Pode ser causada por eritropoiese reduzida (medula óssea hipoproliferativa), na ausência de eritropoietina (insuficiência renal crônica), na doença endócrina (hipoadrenocorticism, hiperestrogenismo, hipoandrogenismo), na inflamação crônica, lesão

tóxica da medula (radiação, químicos, intoxicação por samambaia, infecção por vírus e rickettsias como a *Ehrlichia canis*). São anemias normocíticas normocrômicas. Na anemia arregenerativa não existem reticulócitos e nem policromasia.

TABELA 4.2. Classificação das anemias quanto à resposta medular

REGENERATIVA	ARREGENERATIVA
- Perda sanguínea <ul style="list-style-type: none"> • Traumas ou cirurgias • Intoxicação por dicumarol • CID 	<ul style="list-style-type: none"> • Doença renal crônica • Neoplasias crônicas e/ou metastáticas • Leucemias • Erlichiose: destroem cel. pluripotencial • Panleucopenia felina
- Hemólise <ul style="list-style-type: none"> • Hemoparasitas • Anemia auto-imune • Reação transfusional 	<ul style="list-style-type: none"> • Hiperestrogenismo • Hipoadrenocorticismismo • Hipoandrogenismo • Linfossarcoma

4. 3. Policitemias

É o aumento do número de eritrócitos circulantes acima dos valores normais. Está classificada em policitemia absoluta (primária ou secundária) e relativa.

Quando o hematócrito alcança 60%, suspeita-se de policitemia absoluta ou relativa. Quando alcança 70%, suspeita-se de policitemia primária.

A. Policitemia Absoluta

Ocorre uma elevação do número de eritrócitos circulantes, causado pelo aumento da massa total de eritrócitos, mas a concentração de proteína plasmática está normal. A cianose e a congestão características das membranas mucosas são causadas pelo fluxo lento de sangue desoxigenado que é exorbitantemente rico em células vermelhas. O excesso de massa de eritrócitos aumenta a viscosidade sangüínea e a resistência vascular pulmonar e diminui o débito cardíaco. Estas anormalidades levam a um fluxo sangüíneo reduzido, oxigenação tecidual reduzida, distúrbios neurológicos e aumento do risco de trombose. A viscosidade sangüínea e o grau de transporte de oxigênio alteram-se desproporcionalmente com aumentos do hematócrito acima de 50%. A policitemia absoluta está classificada em primária e secundária.

A **policitemia primária**, verdadeira ou Vera consiste em uma desordem mieloproliferativa, caracterizada por uma proliferação anormal das células eritróides, dos leucócitos e dos megacariócitos, levando a um aumento absoluto da massa de eritrócitos, contagem de leucócitos e de plaquetas.

A **policitemia secundária** ocorre pelo aumento da taxa de eritropoietina, não é acompanhada de aumento nas contagens de leucócitos e plaquetas nem de redução significativa no volume plasmático. Os níveis de eritropoietina aumentam como uma resposta fisiológica compensatória pelos rins à hipóxia tecidual, ou como resultado de produção autônoma independente de suprimento de oxigênio tecidual. É vista em animais levados a grandes altitudes, doença cardíaca e pulmonar crônica, tetralogia de Fallot (provoca mistura dos sangues arterial e venoso, diminuindo a oxigenação dos tecidos). Pode ocorrer também devido à elaboração inadequada de eritropoietina, encontrada em alguns casos de hidronefrose, cistos renais, tumores secretantes de eritropoietina (nefroma embrionário) e certas doenças endócrinas como o hiperadrenocorticismismo.

B. Policitemia Relativa

É comumente encontrada nos animais como resultado da redução do volume plasmático causado pela desidratação. O consumo hídrico, por animais enfermos, geralmente é inadequado para manter o conteúdo de água corporal normal. Doenças acompanhadas por excessiva perda de água (diarréia, vômito, poliúria) podem rapidamente produzir desidratação.

A hemoconcentração aumenta o hematócrito e a proteína plasmática devido à diminuição do volume de plasma.

A policitemia relativa ocorre em animais facilmente excitáveis, como certas raças de cães e cavalos, tendo como resultado o aumento da massa de eritrócitos na circulação devido à contração esplênica. A contração esplênica também pode ocorrer em condições de severa dor, como por exemplo, na síndrome cólica. Os testes laboratoriais para se estabelecer o diagnóstico do tipo de policitemia são a determinação da PO_2 arterial e a mensuração da eritropoietina no soro.

Na vigência de policitemia secundária, a PO_2 estará reduzida e a eritropoietina aumentada; quando se trata de uma policitemia primária, a PO_2 estará normal, enquanto que a eritropoietina poderá encontrar-se diminuída ou normal; em ocorrência de policitemia relativa, todos os parâmetros encontram-se dentro da normalidade.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 4: Contagem de hemácias

4. 4. Modificações eritrocitárias

Tamanho

Anisocitose: diferença patológica de tamanho das hemácias. Quanto mais grave a anemia, maior é a ocorrência de anisocitose.

Macrocitose: predominância de hemácias grandes. Geralmente hemácias jovens, recém produzidas. Ocorrem nas reticulocitoses, hipertireoidismo, deficiência de fatores de multiplicação (vit. B_{12} , ácido fólico e cobalto), em cães da raça poodle, mas sem anemia e cães jovens.

Microcitose: predominância de hemácias pequenas. Ocorre em anemia crônica, principalmente ferropriva. É fisiológica em animais idosos e cães da raça Akita.

Forma

Bicôncava: normal.

Poiquilócitos: são alterações morfológicas indistintas da forma das hemácias.

Outras alterações das hemácias

Corpúsculos de Howell-Jolly: inclusões esféricas de restos celulares. Consiste em uma resposta da medula óssea ao estado anêmico, função esplênica reduzida, uso de glicocorticóides em cães.

Metarrubríctos: eritrócitos imaturos nucleados. Indicam anemia regenerativa, doenças mieloproliferativas ou hemangiossarcomas.

Corpúsculos de Heinz: estruturas redondas na membrana interna do eritrócito, devido à desnaturação oxidativa da hemoglobina. Normal em felinos até 50%; incomum em cães, mas pode ocorrer em esplenectomizados e sob uso de glicocorticóides.

Reticulócitos: Eritrócitos em 25% final de hemoglobinizacão, cujas organelas (ribossomos, RNA, etc) são vistos em sangue fresco com auxílio de coloração supravital. Representam hemácias jovens e indicam boa resposta medular.

Ponteados basofílicos: hemácias que apresentam pequenos pontos basofílicos no citoplasma (RNA residual). Ocorre em intensa eritropoiese, intoxicação por chumbo quando acompanhada de metarrubríctos sem anemia e nas anemias em bovinos e ovinos.

Rouleaux: hemácias empilhadas. Ocorrência normal em eqüinos saudáveis, desidratação ou inflamação nas demais espécies. Em eqüinos severamente anêmicos ou caquéticos, pode estar ausente. Em ruminantes, é raro, tanto em animais saudáveis quanto em doentes.

Aglutinação: aglomeração espontânea dos eritrócitos. Ocorrem em doenças auto-imunes ou transfusões incompatíveis, devido à presença de anticorpos contra hemácias.

Parasitas: podem ocorrer dentro dos eritrócitos ou na superfície da célula. Os mais comumente encontrados são: *Haemobartonella felis*, *H. canis*, *Anaplasma marginalis*, *Babesia equi*, *B. caballi*, *B. canis*, *Eperythrozoon suis* e *Cytauxzoon felis*.

Alterações de forma, cor, tamanho, inclusões, corpúsculos e hemoparasitas estão ilustrados na figura 4.2.

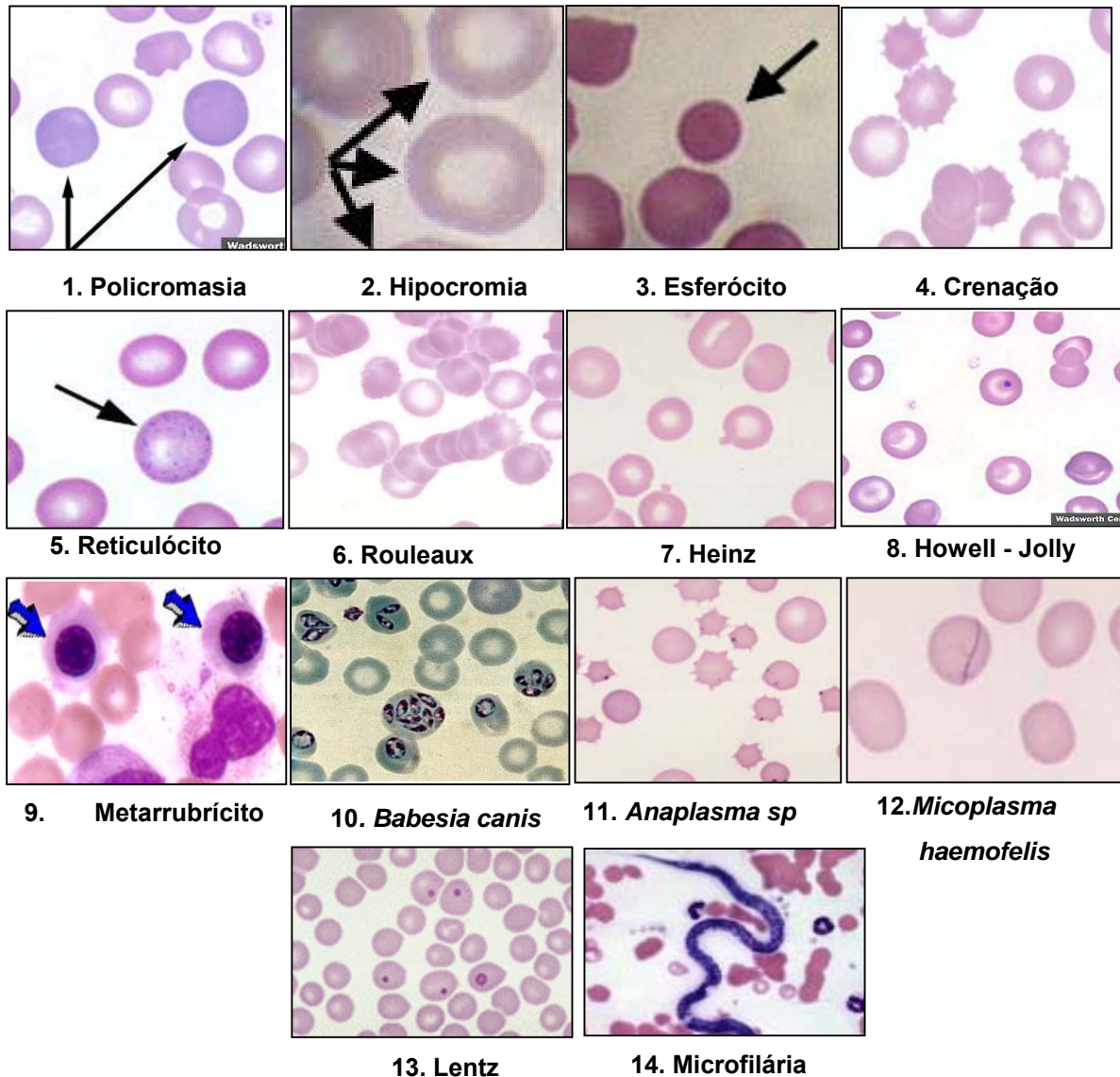


FIGURA 4.2. Diferentes formas e inclusões em eritrócitos.

4. 5. Concentração de Hemoglobina

O método mais usado para determinar a concentração de hemoglobina é o cianometahemoglobina, onde a margem de erro está próxima dos 5%. Para que esta técnica seja realizada, é necessário um fotolorímetro ou espectrofotômetro.

Aparelhos automáticos medem diretamente a densidade ótica da oxi-hemoglobina, sendo bastante utilizados.

Outro método existente é o da hematina ácida, bastante simples e barato, porém a margem de erro está dentro dos 12%. Para a sua realização utiliza-se o hemoglobímetro de Sahli. A hemoglobina corresponde, em média, a 1/3 do hematócrito.

4. 6. Determinação de hemoglobina

Método Cianometa-hemoglobina

Princípio: diluição do sangue em solução contendo cianeto de potássio e ferrocianeto de potássio (Reativo de Drabkin), que convertem a hemoglobina em cianometa-hemoglobina.

Solução de Drabkin: Ferrocianeto de Potássio (20mg), Cianeto de Potássio (50mg) e água (destilada ou deionizada) 1000mL.

Método:

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar;
- Preencher pipeta de Sahli com 20µL do sangue;
- Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze, adicionar a 4mL de reativo de Drabkin e agitar por inversão;
- Repousar por um mínimo de 10 minutos à temperatura ambiente;
- Ler em espectrofotômetro a 546 nanômetros, usando-se tubos específicos;
- Obtém-se o resultado visualmente no aparelho na unidade de g%.

4. 7. Determinação do número total de hemácias

A contagem de eritrócitos pode ser feita por hemocítômetro, mas tem valor limitado em virtude da grande possibilidade de erros. A contagem por contadores automáticos permite valores mais exatos. A diluição para contagem de hemácias pode ser feita utilizando-se apenas solução fisiológica (0,9% NaCl). No entanto, para facilitar a visualização das hemácias pode-se utilizar os seguintes diluentes:

Diluyente de Marcano		Diluyente de Gower (+ usado em ruminantes)	
Sulfato de sódio	50g	Sulfato de sódio	12,5g
Formol 40%	10mL	Ácido acético glacial	33,3mL
Água destilada q.s.p.	1000mL	Água destilada q.s.p.	200mL

Contagem do total de hemácias

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar;
- Com a pipeta de Thoma para glóbulos vermelhos aspirar o sangue até a marca 0,5;
- Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze;
- Diluir em seguida com solução fisiológica até a marca 101;
- Agitar, desprezar as primeiras gotas e encher a câmara de Neubauer por capilaridade;
- Contar as hemácias de cinco quadrados médios (figura 4.3), multiplicar o resultado por 10.000/µL.

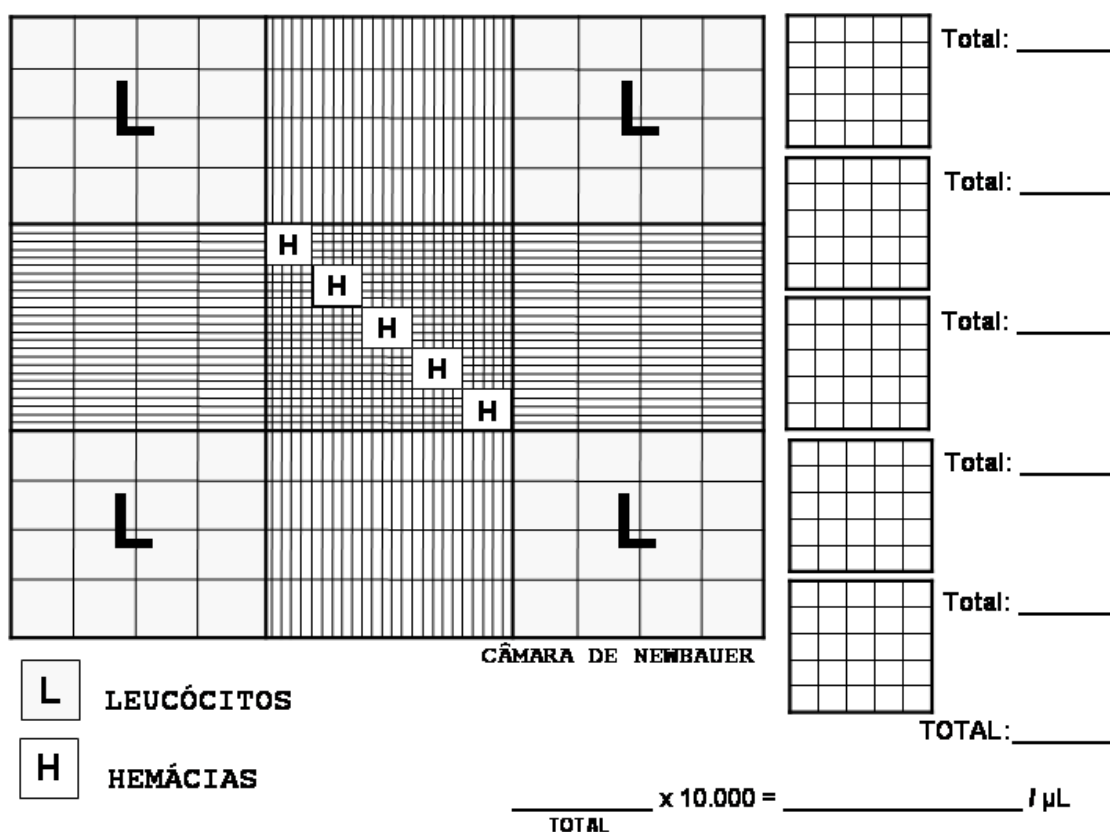


FIGURA 4.3. Esquema da câmara de Neubauer para contagem de hemácias. Utilize a área central para contar as hemácias na sua aula prática, escrevendo os respectivos números das contagens parciais nos respectivos quadrados.

Cálculo da Câmara de Neubauer para contagem de hemácias

Área central: 1mm ²	Volume da área central: 1/10mm ³
Profundidade: 1/10mm	Volume de cada quadrado médio central: 1/250mm ³
Diluição da pipeta: 1/200	Números de quadrados médios centrais contados: 5
Portanto: $\frac{5}{250} \times \frac{1}{200} = \frac{5}{50.000} = \frac{1}{10.000}$ Ou seja, o fator é x 10.000	
Observação: 1µl = 1mm³	

TABELA 4.3. Locais de punção para medula óssea nas espécies

Espécie	Local de colheita	Contenção
Cães e gatos	• Crista ilíaca	Sedação e / ou anestesia
	• Fossa trocantérica femural	Antissepcia local
	• Úmero proximal	Decúbito lateral
Bovinos e eqüinos	• Esterno	Sedação e / ou anestesia
	• Costela	Antissepcia local
		Decúbito lateral ou Estação

4. 8. Atividade extra: medula óssea

A colheita, análise e interpretação da **medula óssea** nos animais domésticos constitui etapa fundamental da avaliação não apenas da série eritrocitária, mas também das séries

leucocitária e plaquetária³. Os locais de punção encontram-se na tabela 4.3.

Técnica de punção

- Introduzir a agulha rotacionando-a até que esta esteja firmemente fixada ao osso;
- Inserir a seringa de 20mL molhada com EDTA 3% na agulha e aspirar a medula óssea. Um volume total de 0,5 a 1,0mL é suficiente para adequada avaliação;
- Soltar o êmbulo da seringa assim que surgir medula óssea no interior da mesma;
- A medula óssea possui gotículas de gordura que facilitam sua identificação. A aspiração de maior quantidade de medula pode diluir a amostra (hemodiluição). Confeccionar imediatamente cinco esfregaços e usar corantes de rotina;
- Caso seja necessário, colocar material medular em placa de Petri, e com auxílio do capilar de microhematócrito, recolher os grumos medulares para a confecção dos esfregaços. A vantagem deste processo é uma correta avaliação nos casos de suspeita de hipoplasia ou aplasia medular.

³ Verifique antes se o uso de animais para esta aula possui aprovação no Comitê de Ética da sua Instituição.

PARTE 5: LEUCOGRAMA I

Os leucócitos ou glóbulos brancos são células produzidas na medula óssea que fazem parte do sangue juntamente com os eritrócitos e as plaquetas.

Os leucócitos são produzidos na medula óssea a partir de uma célula pluripotencial, também chamada célula-tronco ou “stem cell” que vai repopular a medula óssea. A capacidade proliferativa da célula-tronco depende de estímulos apropriados de hormônios estimuladores da leucopoiese.

5. 1. Classificação dos leucócitos

Os leucócitos ou glóbulos brancos são classificados como polimorfonucleares e mononucleares. Os leucócitos polimorfonucleares têm núcleo condensado e segmentado. São células comumente referidas como granulócitos porque contêm grande número de grânulos citoplasmáticos que são lisossomas, contendo enzimas hidrolíticas, agentes antibacterianos e outros compostos. Os grânulos presentes no citoplasma dos neutrófilos são grânulos primários e secundários. Os grânulos primários são sintetizados no citoplasma do mieloblasto ou no pró-mielócito precoce. Os grânulos secundários aparecem no estágio de mielócitos. Três tipos de granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) são identificados pelas características de coloração de seus grânulos secundários.

Os leucócitos mononucleares no sangue são classificados como linfócitos e monócitos. Estas células não são destituídas de grânulos, mas certamente têm menor número de grânulos citoplasmáticos que os granulócitos.

5. 2. Granulopoiese

A granulopoiese ou granulocitopoiese envolve a produção de neutrófilos, eosinófilos e basófilos, através de um processo ordenado. O tradicional conceito de granulopoiese determina a formação de neutrófilos, eosinófilos e basófilos com origem em um precursor celular, o pró-mielócito. Recentes estudos, no entanto, têm demonstrado que cada um destes três tipos de granulócitos possui um pró-mielócito jovem específico e com características ultra-estruturais e citoquímicas próprias.

Na medula óssea, sob estímulos apropriados, a célula pluripotencial origina células progenitoras confinadas que produzem os vários granulócitos. Esta célula com potencial de produção de neutrófilos e monócitos é conhecida como Unidade Formadora de Colônia Granulocítica-Monocítica (UFC-GM), pois em seu estágio inicial é bipotencial. Em seguida, sob estímulo apropriado, a UFC-GM diferencia-se em células unipotenciais, UFC-G e UFC-M. Similarmente há também a existência de progenitores celulares distintos para eosinófilos (UFC-Eos) e basófilos (UFC-Bas).

As células unipotenciais são morfologicamente identificáveis e são precursores conhecidos como mieloblastos, que se dividem, diferenciam-se e maturam-se nos granulócitos sanguíneos específicos.

5. 3. Regulação da granulopoiese

O número de leucócitos específicos que adentram e deixam o sangue é mantido constante mediante diversos mecanismos e condições, ver tabela 5.1.:

TABELA 5.1. Estimuladores e inibidores da granulopoiese

Processo	Estimuladores	Inibidores
Granulopoiese	UFC-GM, UFC-G Granulopoietina Linfocinas (IL-3) Eosinilopoietina Basofilopoietina	Fator inibidor de Colônia Lactoferrina, Transferrinas Certas linfocinas PGE ₁ e PGE ₂ Fator esplênico Ferro em diferentes quantias
Linfopoiese	Interleucina - Interferon	Corticóide

5. 4. Granulocinética

É a informação quantitativa sobre a produção de granulócitos na medula óssea e suas fases intravascular e tecidual. Em estudos dos granulócitos, no sangue e medula óssea, marcados com radioisótopos, foi possível determinar os compartimentos dos neutrófilos em humanos. Também alguns estudos foram realizados em animais.

Três compartimentos funcionais de granulócitos são reconhecidos na medula óssea:

1. Compartimento proliferativo ou mitótico, consistindo de mieloblastos, pró-mielócitos e mielócitos; **2. Compartimento de maturação** ou pós-mitótico, consistindo de metamielócitos e bastonetes; **3. Compartimento de reserva** ou estoque, primariamente composto de neutrófilos maturo e alguns bastonetes.

Um precursor neutrofílico no compartimento de multiplicação geralmente sofre 4 mitoses, uma no estágio de mieloblasto, outra no de pró-mielócito e duas na fase de mielócito. Sob certas circunstâncias, a mitose pode se manter ou mitoses adicionais podem ocorrer, numa taxa de 3 a 7 mitoses (figura 5.1).

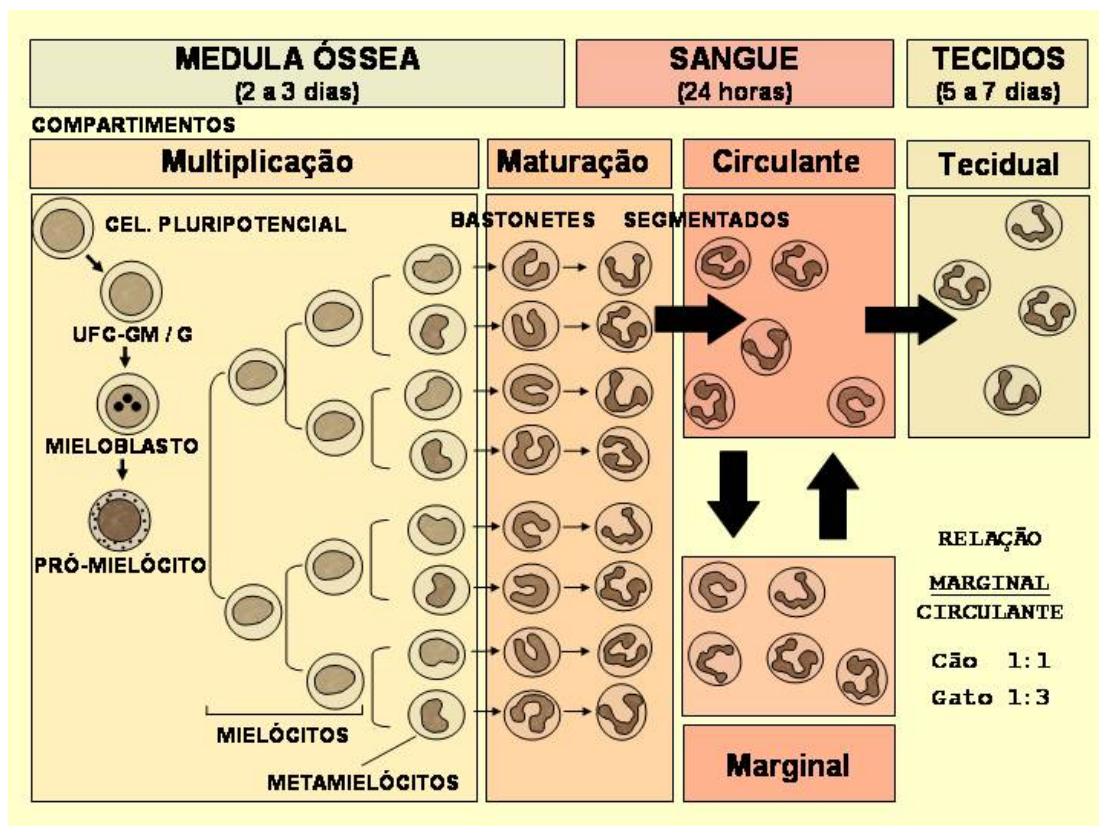


FIGURA 5.1. Principais compartimentos de granulócitos.

5. 5. Neutrófilos

Liberação de Neutrófilos da medula óssea para o sangue

Neutrófilos maduros normalmente emergem à corrente sanguínea em torno de 3 a 5 dias no cão, 4 a 6 dias no bovino e 7 a 11 dias no homem. O compartimento de reserva é geralmente extenso e pode suprir de neutrófilos o cão por 4 a 8 dias. Estas células do compartimento de reserva podem ser rapidamente mobilizadas na demanda corpórea, e a depleção dos estoques reflete-se numa neutropenia e desvio à esquerda da medula óssea e provavelmente também no sangue periférico. A expansão do compartimento de multiplicação com acréscimo da granulopoiese efetiva ocorre em resposta ao consumo, gerando uma neutrofilia; no entanto este fato leva em torno de 3 a 4 dias no cão, e um pouco mais nos bovinos.

Fatores que influenciam a liberação de neutrófilos

A liberação de neutrófilos no sangue é influenciada por vários fatores, incluindo micro-ambiente medular, localização anatômica, propriedades celulares como a deformabilidade, fluxo nos sinusóides medulares, fatores de liberação celular e fatores neuro-hormonais. Os neutrófilos maduros são os primeiros a migrar através das junções intercelulares dos sinusóides medulares, pois possui maior capacidade de deformabilidade e motilidade.

Compartimentos funcionais de neutrófilos

O compartimento marginal é primariamente localizado no baço e pulmões, e consiste de leucócitos aderidos transitoriamente na parede de capilares e pequenos vasos sanguíneos. A capacidade deste compartimento varia com a espécie, sendo que o cão, bovino e equino possui no marginal metade dos neutrófilos vasculares, enquanto que no gato esta reserva chega a 2,5 vezes o compartimento circulante. Bezerros de 8 a 16 dias de idade têm um maior compartimento de granulócitos que bovinos de 6 meses a um ano de idade. Os neutrófilos no sangue permanecem em um equilíbrio dinâmico. O compartimento marginal pode ser mobilizado rapidamente sob a influência de epinefrina e corticóides endógenos liberados por estímulos fisiológicos ou patológicos como estresse, exercício, traumas e infecções.

Fatores envolvidos na marginação dos neutrófilos

Os fatores que estão envolvidos na marginação dos neutrófilos incluem: C5a, prostaciclina (PGI₂) produzidas pelas células endoteliais das paredes dos vasos e, com maior importância, alguns componentes dos grânulos dos neutrófilos, incluindo moléculas de adesão dos leucócitos. A adrenalina diminui a aderência dos neutrófilos por aumentar a produção de AMP cíclico.

Expansão de vida intravascular dos neutrófilos

O compartimento circulante é composto dos neutrófilos que livremente circulam pelo sangue, estes possuindo uma meia vida em torno de 7 a 14 horas. Os neutrófilos aleatoriamente saem da circulação para os tecidos e cavidades corpóreas, normalmente sem retorno, onde podem permanecer por 2 a 3 dias fisiologicamente ou menos quando em processos patológicos. A exceção é para os neutrófilos leucêmicos.

Função dos neutrófilos

A função primária dos neutrófilos é a fagocitose e morte de microorganismos. Os neutrófilos também podem causar dano tecidual e exercer efeito citotóxico, como atividade parasitocida mediada por anticorpo e atividade tumoricida. A liberação de substâncias bioativas ou sua produção pelos neutrófilos tem sido reconhecida, como exemplo: liberação de pirógenos endógenos e moléculas de adesão. Os neutrófilos ativados secretam citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF), FEC-G e FEC-M.

O papel do neutrófilo para a manutenção da saúde pode ser melhor entendido pela sequência de eventos que podem ocorrer após uma infecção local com estafilococos ou coliformes. Inicialmente as toxinas bacterianas elaboradas localmente e substâncias químicas, liberadas dos tecidos lesados, aumentam a permeabilidade vascular, principalmente à liberação de proteínas do plasma e acumulação de leucócitos, predominantemente neutrófilos, na área inflamada. Subseqüentemente, a liberação de substâncias químicas dos neutrófilos danificados ou mortos, assim como a geração de componentes complementos ativados, acentuam o processo inflamatório. Com o tempo, a atividade fagocítica e bactericida dos neutrófilos e monócitos infiltrantes, a ação de anticorpos e componente complemento ativado controlam o crescimento bacteriano.

Vários passos estão envolvidos na resposta funcional dos neutrófilos para o controle da infecção. Alguns eventos geralmente ocorrem quando os monócitos atuam similarmente. Estes passos incluem adesão, quimiotaxia, opsonização, fagocitose, degranulação, ação microbicida e exocitose. As funções características dos neutrófilos são:

Aderência: extravasamento de neutrófilos (diapedese) que se inicia logo após a infecção microbiana e é normalmente seguida por atração quimiotática até o microorganismo e sua destruição fagocítica. Durante a diapedese, os neutrófilos circulantes primeiro aderem-se ou margeiam ao redor da superfície endotelial venular alterada, emigrando através das junções intracelulares, pela membrana basal, até penetrar no tecido. A adesão de neutrófilos ao endotélio vascular e extravasamento são influenciados pelas moléculas de adesão da

superfície da célula.

Quimiotaxia: é definida como um movimento direcionado dos leucócitos a um alvo em particular (bactérias principalmente), sob influência do gradiente de concentração de substâncias quimiotáticas no local. A quimiotaxia é um processo ativo e envolve a participação de componentes citoesqueléticos e outras proteínas de mobilidade, como a miosina.

Fagocitose e Degranulação: a fagocitose é um processo ativo de ingestão de uma partícula microscópica pelo leucócito por meio da extensão de pseudópodes citoplasmáticos ao redor do alvo. A pinocitose refere-se a internalização da vesícula fluída por células específicas. Células imaturas como bastonetes e metamielócitos possuem menor capacidade fagocitária, enquanto que mielócitos e precursores imaturos são geralmente afuncionais na defesa do hospedeiro.

A fagocitose é influenciada por vários fatores físicos e químicos, tanto do fagócito como da partícula, e também pelas condições micro-ambientais. A aderência de opsoninas na superfície da bactéria e outras partículas estranhas alteram as suas características superficiais e atuam como receptores para a fagocitose.

Atividade antimicrobiana: grânulos lisossomais no interior dos vacúolos fagocíticos fundem-se com a membrana vacuolar para formar um fagolisossomo e liberar seus componentes para matar e digerir a bactéria (tabela 5.2).

TABELA 5.2. Mecanismos microbicidas dos neutrófilos

Principais mecanismos microbicidas		
Oxigênio dependente	Mieloperoxidase independente	Oxigênio independente
Mieloperoxidase	H ₂ O ₂ Ânion superóxido Radical hidroxila	Acidez fagossomal Lisozima / lactoferrina Proteases / Fosfol.A2

Exocitose: refere-se à descarga extracelular de conteúdo celular através da fusão dos vacúolos fagocíticos com a membrana celular. Bactérias mortas, produtos de bactérias degradadas ou grânulos dos neutrófilos e seus componentes podem ser exocitados.

Anormalidades funcionais e morfológicas dos neutrófilos

Marcadas mudanças qualitativas e quantitativas nos neutrófilos podem predispor à infecção. Alguns fatores contribuem para a diminuição da resistência às infecções, o qual podem ser fatais, como: defeito de aderência, migração, quimiotaxia, degranulação, ingestão e atividade antimicrobiana.

Anormalidades morfológica

As anormalidades morfológicas nos neutrófilos geralmente incluem aberrações de maturação, tamanho da célula, forma nuclear, características dos grânulos e citoplasma. Estas anormalidades são chamadas de mudanças tóxicas. São vistas em pacientes com severa infecção bacteriana, septicemia, condição inflamatória aguda e extensiva destruição tecidual. Os efeitos tóxicos durante a granulopoiese são refletidos como basofilia citoplasmática, presença de grânulos tóxicos e corpúsculo de Döhle, núcleo hipersegmentado e a produção de neutrófilos gigantes e bizarros. A basofilia é o resultado da retenção de ribossomos e RER. Os grânulos tóxicos tornam-se visíveis nos neutrófilos mielócitos tóxicos e entre os neutrófilos maduros pela retenção do ácido mucopolissacarídeo. Corpúsculo de Döhle são inclusões citoplasmáticas que resultam da agregação lamelar do RER. São mais comuns em gatos do que em outras espécies animais.

5. 6. Eosinófilos

Local de produção

O maior sítio de produção de eosinófilos é a medula óssea, embora também ocorra em menor grau em outros tecidos como baço, timo e linfonodos cervicais. Em geral, os eosinófilos são produzidos em torno de 2 a 6 dias e adentram no sangue periférico aproximadamente 2 dias após. Sua meia vida intravascular é de 4 a 6 horas em humanos e menos de 1 hora nos cães; a seguir entram tecidualmente e normalmente não retornam para a circulação sanguínea.

A entrada de eosinófilos para os tecidos é influenciada por quimiotáticos locais e específicos. Várias substâncias são quimiotáticas para eosinófilos, incluindo complexos antígeno-anticorpo envolvendo primariamente IgE, produtos de mastócitos como histamina e fator quimiotático a eosinófilos (FQE), componentes da ativação do complemento (C5a, C567), metabólitos do ácido aracdônico, linfocinas, fibrinogênio e fibrina, e alguns produtos resultantes do dano tecidual.

Os eosinófilos têm participação na regulação alérgica e resposta aguda inflamatória e pode induzir dano tecidual. Podem ainda, participar na coagulação e fibrinólise através da ativação do fator XII e plasminogênio.

As principais funções dos eosinófilos são: fagocitose e atividade bactericida, atividade parasitocida, regulação das respostas alérgicas e inflamatórias e injúria tecidual.

Regulação da resposta alérgica e inflamatória

O papel regulatório dos eosinófilos na resposta alérgica tem sido sugerido pelas seguintes observações:

- Os eosinófilos podem fagocitar complexos imunes e grânulos dos mastócitos;
- As prostaglandinas (PGE_1 e PGE_2) e zinco dos eosinófilos inibem a liberação de histamina, serotonina e FAP dos mastócitos;
- Os eosinófilos contêm fatores que inibem o fornecimento de histamina pelos mastócitos;
- A histaminase dos eosinófilos inativa a histamina livre;
- A fosfolipase C dos eosinófilos inibe a liberação FAP pelos mastócitos.

O papel regulatório dos eosinófilos na inflamação aguda tem sido inferido às propriedades anti-histamínica e antiinflamatória dos eosinófilos. Além disso, os grânulos dos eosinófilos contêm substâncias que inibem as propriedades de indução do edema como a serotonina e bradicinina.

Atividade parasitocida dos eosinófilos

As ações parasitocidas dos eosinófilos ocorrem por intermédio da interação com os mastócitos e os linfócitos.

A infecção, pelo parasita, estimula a resposta humoral e celular. Os anticorpos IgG específicos produzidos podem se ligar ao parasita, fixar complemento, iniciar a reação inflamatória e provavelmente infligir algum dano ao parasita. Enquanto isso, os anticorpos IgE específicos irão ligar-se aos mastócitos teciduais e causar a degranulação e liberação de substâncias bioativas como histamina, fator de anafilaxia quimiotático para eosinófilos (FQE-A) e fator de ativação plaquetária (FAP). As linfocinas (IL-3, IL5, FEC-Eos, FECrescimento-Eos.), produzidas pelos linfócitos T ativados pelos antígenos dos parasitas, podem estimular a produção e liberação de eosinófilos, sendo refletido no sangue como eosinofilia.

O influxo de eosinófilo da medula para o sangue é também influenciado pelos níveis circulantes de histamina, que resulta da degranulação dos mastócitos nos tecidos. A eosinofilia tecidual resulta da resposta a quimiotáticos como a histamina e componentes da ativação do complemento que são gerados no local da infecção parasitária.

5. 7. Basófilos

São células pouco estudadas porque são raras no sangue e medula óssea. Os basófilos são freqüentemente comparados com os mastócitos por causa de algumas similaridades morfológicas e funcionais.

A produção dos basófilos é na medula óssea semelhante aos demais granulócitos, no entanto os mastócitos são produzidos de células mesenquimais indiferenciadas no tecido conectivo da medula óssea.

Os basófilos e os mastócitos contêm várias substâncias de importância biológica, e podem sintetizar inúmeras substâncias imunológicas e não imunológicas. A composição dos grânulos varia entre espécies. Seus grânulos são particularmente ricos em histamina, heparina e em algumas espécies serotonina. Quando estimulado antigenicamente sintetiza importantes fatores como Fator ativador plaquetário (FAP), substâncias de reação à anafilaxia (SRA) e tromboxano A_2 (TxA_2). Os mastócitos contêm um fator chamado Fator quimiotático eosinofílico de anafilaxia (FQE-A) e os basófilos sintetizam-os quando estimulados.

A basofilia e eosinofilia algumas vezes ocorrem simultaneamente, devido a interação dos dois tipos de células.

5. 8. Monócitos

Cinética dos monócitos

O monócito é um descendente da célula progenitora bipotencial, a UFC-GM, que pode produzir tanto neutrófilos como monócitos. A diferenciação de UFC-GM em UFC-M e a proliferação dos precursores monocíticos (monoblastos e pró-monócitos) em monócitos são influenciados por um fator específico chamado fator estimulador de colônia monocítica (FEC-M).

O monoblasto divide-se uma vez e o pró-monócito uma ou duas, mas o monócito normalmente não se divide na medula óssea. Os monócitos aparecem em pequena quantidade na medula óssea, mas os monoblastos e pró-monócitos são raros de se observar. O tempo médio de liberação dos monócitos na medula óssea é em torno de 2 a 2,5 dias. Não há reserva de monócitos na medula óssea, como para os neutrófilos; no entanto monócitos jovens são rapidamente liberados, num período de até 6 horas. Os monócitos são distribuídos no sistema vascular entre os compartimentos circulatório e marginal na proporção de 1:3,5. A meia vida de sobrevivência na circulação sanguínea é estimada em torno de 8 a 71 horas. Os monócitos geralmente deixam o sangue para adentrar aos tecidos.

Os macrófagos teciduais são originados dos monócitos, mas são mais numerosos que os monócitos circulantes; aproximadamente uma proporção de 50:1. Os monócitos migram para os tecidos através de regiões interendoteliais das paredes vasculares; no entanto a demanda é mais suprida pela proliferação local de macrófagos que se dividem que pelos monócitos sanguíneos (figura 5.2).

Funções dos monócitos

As funções dos monócitos e macrófagos incluem a transformação de monócitos em células efectoras teciduais; ação fagocítica e microbicida; regulação da resposta imune; remoção fagocitária de debris e outros restos celulares; secreção de monocinas, enzimas lisossomais, e outros; efeito citotóxico contra células tumorais e eritrócitos; regulação da hematopoiese: granulo, mono, linfo e eritro; regulação da inflamação e reparo tecidual e ainda coagulação e fibrinólise.

Principais produtos secretados pelo Sistema Fagocítico Mononuclear

Dentre os produtos secretados pelos monócitos e macrófagos, citam-se componentes do sistema complemento, substâncias citotóxicas e antimicrobianas, produtos do metabolismo do ácido aracdônico, enzimas lisossomais, fatores moduladores de outras células incluindo interleucinas, fatores fibrinolíticos e pró-coagulantes e outros fatores.

5. 9. Linfócitos

Linfopoiese e cinética linfocitária

Os linfócitos representam um grupo heterogêneo de células tanto morfológica como funcionalmente. Eles são a base no desencadeamento e execução da resposta imune. Os linfócitos são produzidos na medula óssea, nos órgãos linfóides como o timo, linfonodos e baço, além dos tecidos linfóides viscerais, que incluem as placas de Peyer, tonsilas e apêndices. A medula óssea nos mamíferos é o maior órgão linfopoietico; no entanto exceto no suprimento de precursores linfóides para colonização dos órgãos linfóides periféricos, a linfopoiese na medula óssea e timo é ineficaz.

Durante a vida intra-uterina a célula tronco pluripotencial indiferenciada origina-se primeiro do saco vitelino e depois do fígado, baço e medula óssea fetais. Sob influência de apropriado micro-ambiente e outros estímulos, estes progenitores linfóides originados na medula óssea continuamente colonizam os órgãos linfóides primários - Bursa de Fabrício nas aves ou medula óssea nos mamíferos, e o timo. Nestes sítios duas populações funcionais e fenotipicamente distintas de precursores linfocíticos desenvolvem-se. Estas células então migram para os órgãos linfóides secundários ou periféricos (como linfonodos e baço), onde se tornam preferencialmente localizadas em porções típicas e dão início, em resposta a estímulo antigênico apropriado, à proliferação de subséries imunocompetentes de linfócitos T ou B.

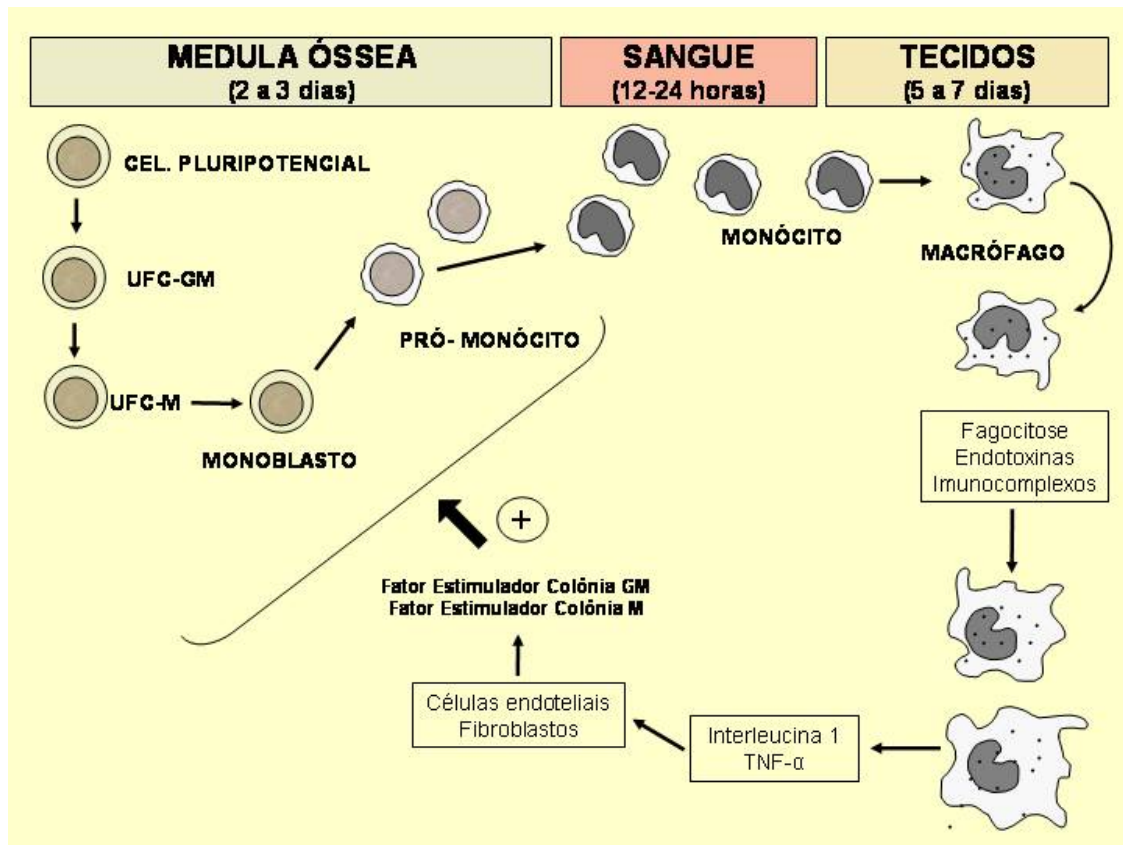


FIGURA 5.2. Esquema de formação de monócitos e macrófagos.

Os linfócitos que suprem o sangue são produzidos de maneira passo a passo, primariamente nos linfonodos e, em extensão limitada, em outros tecidos linfóides. Linfoblastos, pró-linfócitos e linfócitos podem ser identificados morfológicamente, mas suas linhagens T e B não. O tempo de produção dos linfócitos é estimada entre 6 e 8 horas, e em alguns casos podem levar menos de 2 horas. O número de mitoses envolvido varia com o tipo celular (6 a 8h para células T e 2 a 3h para B). A linfopoiese é estimulada por exposição antigênica e deprimida por corticóides, hormônios sexuais e má nutrição.

Subpopulações

A população total de células B e T no sangue da maioria das espécies animais está em torno de 70% de células T, 20% de células B e o restante provavelmente composto por células “nulas”, de função e origem desconhecidas. Dentre os tecidos linfóides, as células T predominam no timo, linfonodos e ducto linfático torácico; as células B predominam na medula óssea e baço. No sangue e vários tecidos a maior parte das células T são de vida longa, e a maioria dos linfócitos B são de vida curta; as células T e B de memória são de vida longa. A média de meia vida dos linfócitos humanos de vida longa é estimada em 4,3 anos e em torno de 1% sobrevivem até 20 anos. A sobrevivência de linfócitos de vida curta se situa entre poucas horas a 5 dias.

Recirculação

Em contraste com os granulócitos, em torno de 70% dos linfócitos do sangue periférico que saem através do tecido retornam ao sistema vascular para recirculação. Esta propriedade dos linfócitos torna difícil e imprecisa a estimativa da meia vida dos linfócitos. A população recirculante demora em torno de 15 a 48 horas para recircular e consiste primariamente de linfócitos T e linfócitos B, exceto os de memória que são considerados não circulantes.

O fenômeno de recirculação é de suma importância biológica porque proporciona um mecanismo de distribuição generalizada de células linfóides ocupadas com a resposta imune sistêmica. Como resultado, um grande número de linfócitos podem ser expostos a um antígeno depositado localmente no tecido. Estas células antigenicamente expostas podem ser transportadas por vários lugares no corpo para propagar e montar uma vigorosa resposta imune.

Os linfócitos recirculam do baço, timo e medula óssea para o sangue periférico daí vão aos tecidos, dos tecidos à linfa, linfonodos e assim sucessivamente.

Funções

Os linfócitos T e B exercem diferentes funções e possuem receptores de membrana para o reconhecimento de antígenos. Existe uma terceira população de linfócitos que não expressam receptores de antígenos em suas membranas, as células exterminadoras naturais (Natural Killer), são derivadas da medula óssea e são funcionalmente distintas das células T e B pela sua habilidade de lisar certas linhagens de células tumorais sem prévia sensibilização. Do ponto de vista morfológico estas células são linfócitos grandes granulares. Estes linfócitos apresentam grânulos no seu citoplasma que constituem os lisossomas primários e aparelho de Golgi bem desenvolvidos.

Principais funções linfocitárias

As principais funções dos linfócitos incluem a imunidade humoral, imunidade celular, regulação imune, atividade citotóxica e vigilância imune e secreção de linfocinas.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 5: Contagem de leucócitos

O leucograma é a parte do hemograma que pesquisa alterações quantitativas e/ou morfológicas das séries leucocitárias. Ele é composto da contagem global de leucócitos e suas contagens diferenciais, consideradas em seu número relativo e absoluto. Além disso, devem ser registradas as observações sobre as alterações morfológicas encontradas no esfregaço sanguíneo; defeitos funcionais somente serão notados quando acompanhados de morfologia alterada.

5. 10. Contagem total de leucócitos

Determinação do número total de leucócitos

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar;
- Com a pipeta de Thoma para glóbulos brancos aspirar o sangue até a marca 0,5;
- Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze;
- Diluir em seguida com solução fisiológica até a marca 11;
- Agitar, desprezar as primeiras gotas e encher a câmara de Neubauer por capilaridade;
- Contar os leucócitos dos quatro quadrados grande-angulares (figura 5.3) e multiplicar por 50/ μ l.

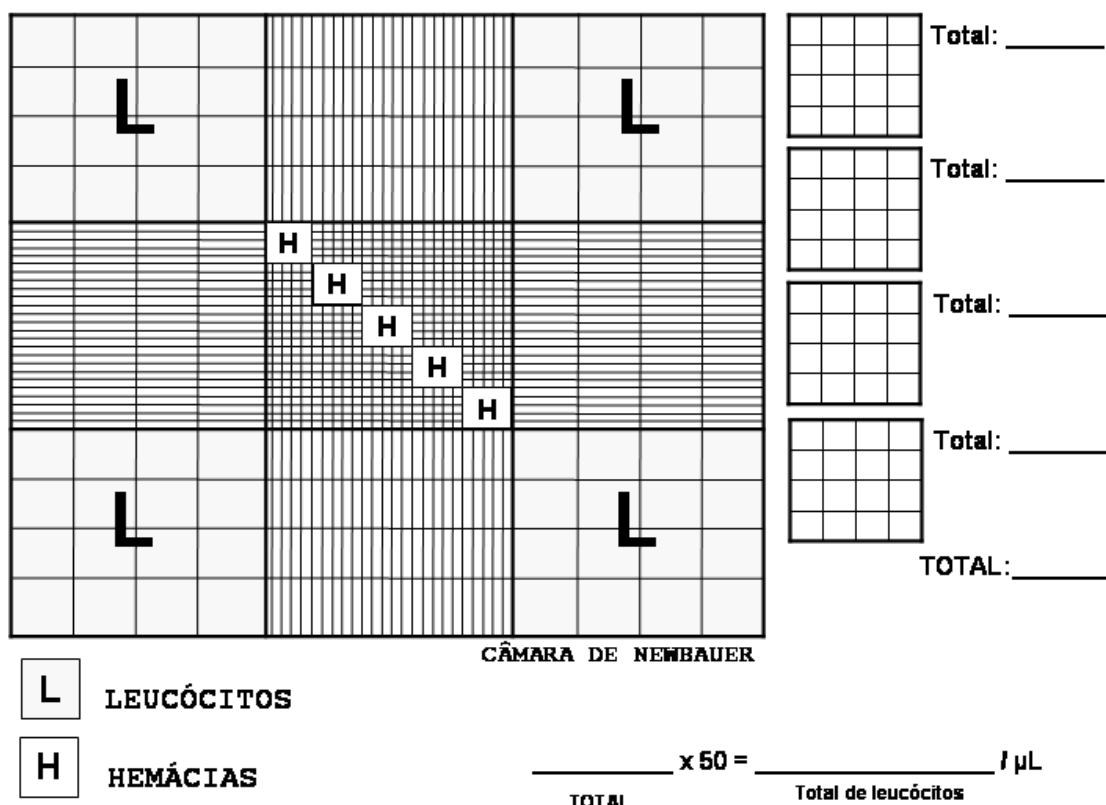


FIGURA 5.3. Esquema da câmara de Neubauer – Contagem de leucócitos. Utilize a área central para contar as hemácias na sua aula prática, escrevendo os respectivos números das contagens parciais nos respectivos quadrados.

Cálculo

Cálculo da Câmara de Neubauer para contagem de leucócitos

Área lateral: 4 x 1mm ²	Volume de cada quadrado lateral: 1/10mm ³
Profundidade: 1/10mm	Volume total dos 4 quadrados laterais: 4/10mm ³
Diluição da pipeta: 1/20	Números de quadrados médios centrais contados: 5
Portanto: $\frac{4}{10} \times \frac{1}{20} = \frac{4}{200} = \frac{1}{50}$	
Ou seja, o fator é x 50	

Observação: 1μL = 1mm³

Estimativa da contagem de leucócitos

A contagem dos leucócitos pode ser também estimada indiretamente no esfregaço sanguíneo. Na interpretação do leucograma deve ser utilizado o resultado absoluto da contagem leucocitária, pois o resultado relativo não expressa a realidade leucocitária.

Um caminho adicional na avaliação de um leucograma é examinar rapidamente a proporção neutrófilos maduros para linfócitos, usando a seguinte proporção normal:

Cão – 2,5 a 3,5:1	Cavalo – 1,5:1	Suino – 0,7:1
Gato – 1,8:1	Bovino – 0,5: 1	

Exemplo: Se um diferencial revela 95% de neutrófilos e 5% de linfócitos em um cão, há uma linfopenia ou uma neutrofilia ou a combinação de ambas? Se a contagem de leucócitos for 20000 teria uma neutrofilia (3000-12000) e linfócitos normais (1000-4900) ao passo que, se a contagem de leucócitos for 8 000 o que é evidente é uma linfopenia.

Observação: É necessário fazer a correção da contagem de células nucleadas que são contadas nos contadores automáticos.

Correção da contagem total de leucócitos

$$\text{Contagem corrigida} = \frac{\text{Nº de células nucleadas} \times 100}{100 + \text{nº de eritrócitos nuclucleados em 100 leucócitos}}$$

Exemplo: Se a contagem de leucócitos for 20 000/ μ l.

Diferencial revelar 80% neutrófilos segmentados, 20% linfócitos, mas também 40 eritrócitos nucleados.

Aplicar a fórmula de correção: $X = \frac{20.000 \times 100}{100 + 40} = 14.285 \text{ células}/\mu\text{l}.$

PARTE 6: LEUCOGRAMA II

6. 1. Interpretação dos parâmetros leucocitários

A interpretação dos parâmetros leucocitários requer um conhecimento dos fatores que podem influenciar os valores hematológicos. Informações sobre a coleta da amostra, morfologia normal das células, características específicas e variações fisiológicas são necessárias para o reconhecimento de anormalidades hematológicas. A história e o exame clínico do paciente complementam os resultados laboratoriais para o diagnóstico das doenças.

A contagem diferencial e total de leucócitos, o qual compreendem o leucograma, são de ajuda valiosa na avaliação hematológica da resposta do hospedeiro a infecção bacteriana e no diagnóstico de leucemias e outras doenças. Na interpretação do leucograma é necessário conhecer não somente a contagem total e diferencial dos leucócitos, mas reconhecer que, mudanças morfológicas pertinentes aos leucócitos e informações sobre outros componentes sanguíneos devem ser obtidos, como proteína plasmática total, concentração de fibrinogênio. Também são importantes informações sobre o eritrograma, a contagem de reticulócitos e células nucleadas.

6. 2. Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda produzida no fígado. Nos processos inflamatórios de várias causas, a concentração do fibrogênio pode elevar-se entre 3-4 dias e permanecer alto por vários dias ou semanas como nas doenças crônicas. Geralmente a resposta do fibrinogênio inicia-se com a resposta dos leucócitos, persistindo por mais tempo que os leucócitos.

Em bovinos o fibrinogênio é um importante parâmetro a ser avaliado, porque pode ser a única indicação de uma resposta inflamatória ativa. Nas doenças que ocorrem excessivo depósito de fibrinogênio tecidual sua concentração no sangue pode não estar elevada, ficando entre os valores de referência ou até mesmo abaixo destes valores.

6. 3. Leucocitose

A contagem total de leucócitos varia com a espécie animal e também é influenciada pela idade. Esta é alta ao nascimento e diminui gradualmente para atingir valores de adulto entre 2 a 12 meses de idade. A contagem total de leucócitos é definida pelo aumento, acima dos valores de referência, como leucocitose ou pela diminuição, como leucopenia. Os sufixos citose e filia denotam um aumento na contagem de leucócitos, entretanto, penia indica uma diminuição comparada com os valores de referência. As leucocitoses são muito mais comuns que as leucopenias e não são um sinal de mau prognóstico como a leucopenia.

Tipos de leucocitose

A leucocitose pode ser fisiológica, reativa e proliferativa (autônoma). As mudanças na contagem total de leucócitos podem envolver anormalidades de produção, liberação, distribuição intravascular, vida média e ingresso tecidual de vários leucócitos. Por exemplo: os neutrófilos circulantes estão num equilíbrio dinâmico com os neutrófilos no compartimento marginal e de reserva da medula óssea. Uma demanda funcional imediata de neutrófilos é feita primeiro pela mobilização das células do pool marginal e circulante, seguida pela reserva da medula óssea e finalmente pelo aumento da granulopoiese e liberação acelerada. O aumento de liberação de células é observado no sangue periférico como um desvio à esquerda. Assim o tamanho dos compartimentos marginal, circulante, reserva e capacidade proliferativa da medula óssea, são determinantes importantes na resposta dos leucócitos às doenças (figura 6.1).

COMPARTIMENTOS (POOL) DE NEUTRÓFILOS

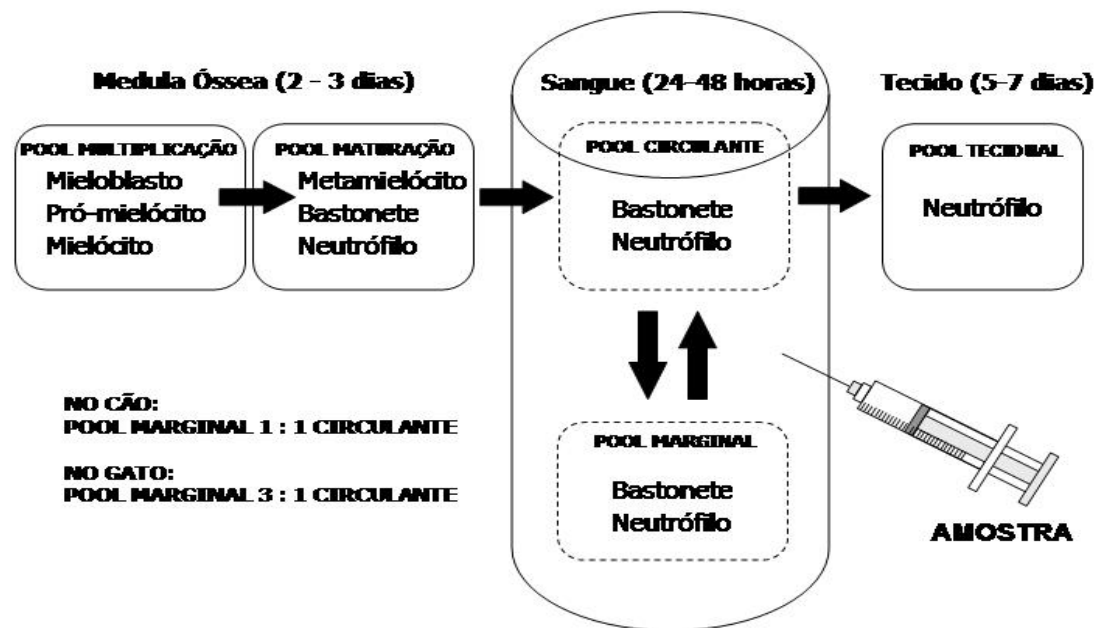


FIGURA 6.1. Esquema dos compartimentos dos neutrófilos.

A. Leucocitose fisiológica

A leucocitose fisiológica ocorre como uma resposta a adrenalina, no qual o compartimento marginal de neutrófilos e/ou linfócitos são mobilizados para a circulação geral, aumentando a contagem total de leucócitos e o número de neutrófilo absoluto e/ou linfócitos. Assim uma neutrofilia ou linfocitose transitória, ou ambas, podem se manifestar. Esta condição é comum em animais jovens e geralmente é desencadeada por distúrbios emocionais e físicos. Raramente o número de monócitos e eosinófilos aumenta.

Leucocitose induzida por corticosteroide ou estresse – a leucocitose pode ocorrer em condição de saúde (fisiológica) ou nas doenças (patológica). A liberação de glicocorticoide endógeno ou administrado terapêuticamente causa consideráveis mudanças hematológicas. Tipicamente produz leucocitose causada por neutrofilia, usualmente sem desvio à esquerda, linfopenia e eosinopenia. Monocitose ocorre no cão. A neutrofilia ocorre pela mobilização dos neutrófilos segmentados do compartimento de reserva da medula óssea e pela diminuição da diapedese das células para os tecidos. A linfopenia ocorre principalmente pela linfólise dos linfócitos T sensíveis a esteróides no sangue e tecido linfóide, ou pela marginação e seqüestro dos linfócitos nos locais extravasculares. Eosinopenia ocorre principalmente pela diminuição da saída destas células da medula óssea, devido à interferência com o efeito quimiotático da histamina nos eosinófilos. A causa de monocitose permanece desconhecida. A resposta dos basófilos, ao corticóide, é similar a dos eosinófilos, mas não é reconhecida usualmente, porque os basófilos são raros no sangue.

B. Leucocitose reativa

A leucocitose reativa ocorre em resposta às doenças. Certas doenças podem induzir uma resposta específica, mas usualmente um padrão geral de resposta dos leucócitos é evidente, independente da doença. A leucocitose reativa pode ocorrer com ou sem desvio à esquerda. O grau de leucocitose varia com as espécies e é usualmente relativa para a relação neutrófilos: linfócitos (N:L). Animais com alta relação N:L, como o cão e o gato, apresentam uma maior resposta que animais com baixa relação N:L como eqüinos e bovinos.

Uma resposta induzida por corticosteroide ou, menos comumente, por adrenalina pode ocorrer simultaneamente com uma leucocitose reativa. A diferenciação da leucocitose reativa da leucocitose por corticosteroide ou epinefrina pode ser feita pois a leucocitose é considerada reativa quando um ou mais dos seguintes itens são encontrados: Leucocitose com desvio à esquerda; Hiperfibrinogenemia; Monocitose em outras espécies que não o cão; Ausência de

linfopenia ou eosinopenia.

No cão a monocitose acompanhada de um ou mais dos outros quatro critérios, ou o valor da contagem absoluta de monócitos deve ser duas vezes maior que o normal.

C. Leucocitose proliferativa

A leucocitose proliferativa ou autônoma resulta de uma mudança neoplástica da célula pluripotencial. As formas mais comuns de leucemias são: linfocíticas, mielógenas, mielomonocítica e monocítica. As leucemias eosinofílicas e basofílicas são raras. É importante observar que muitas vezes o câncer das células sangüíneas não manifesta uma leucocitose, portanto, a contagem de leucócitos pode estar normal ou mesmo diminuída e a população de células na medula óssea pode estar alterada com pequena ou nenhuma evidência no sangue periférico.

6. 4. Leucopenia

A leucopenia, em muitos animais, ocorre por neutropenia e linfopenia. A neutropenia é causa primária de leucopenia em animais com uma relação N:L maior que 1, e linfopenia em animais que a relação N:L é menor que 1. A neutropenia é mais comum em infecções bacterianas e linfopenia em infecções virais. Severas infecções bacterianas e virais podem causar leucopenia associada com neutropenia e linfopenia, ou ambas e também podem reduzir o número de outros leucócitos. Salmonelose no cavalo e mastitis coliformes são exemplos clássicos de infecção bacteriana que leva a neutropenia e linfopenia e a infecção do vírus da panleucopenia felina é um exemplo de infecção viral. O retorno dos linfócitos e dos eosinófilos no sangue, determinado por hemogramas sequenciais, indica convalescência e é geralmente um sinal de bom prognóstico. A leucopenia ocorre frequentemente durante o estágio precoce da cinomose e é seguida de leucocitose por uma infecção bacteriana secundária. Uma marcada linfopenia é um quadro consistente na cinomose, devido a atrofia e necrose do tecido linfóide, produzido pelo vírus. Ambos os linfócitos T e B estão reduzidos e a imunidade humoral e celular estão suprimidas em animais sobreviventes. Em cães sobreviventes, o número de linfócitos no sangue permanece baixo por um período prolongado.

Tipos de leucopenia

As leucopenias ocorrem principalmente por neutropenias, que podem ser agrupadas em sobrevivência reduzida de neutrófilos maduros, produção reduzida pela medula óssea, produção ineficaz de neutrófilos e seqüestro de neutrófilos.

A. Sobrevivência reduzida de neutrófilos maduros

Ocorre quando há uma demanda tecidual aguda e maciça que esgota rapidamente o compartimento de neutrófilos no sangue. Uma demanda excessiva, continuada, leva a exaustão da medula óssea (estoque) e excede a produção, resultando em um desvio à esquerda degenerativo, há mais neutrófilos imaturos que maduros. A contagem total de neutrófilos pode estar normal ou diminuída. Desvio à esquerda degenerativo indica uma situação sistêmica desfavorável. Mudanças morfológicas tóxicas são muitas vezes observadas nos neutrófilos. Estas mudanças incluem: basofilia citoplasmática, vacuolização e corpúsculo de Döhle.

B. Produção reduzida pela medula óssea

É associada com a falência primária da medula óssea. Outras linhas de células podem também ser afetadas. A neutropenia não é acompanhada por desvio para a esquerda. Causas conhecidas incluem: infecções (parvovirose canina e felina, *Ehrlichia* sp, vírus da leucemia felina, vírus imunossupressivo felino), drogas (trimetoprim fenilbutazona, estrógeno, agentes quimioterápicos) e hematopoiese cíclica dos colíes cinzas.

C. Produção ineficaz

Neutropenia imuno-mediada, resultando em sobrevivência reduzida. Ocorre em animais, mas não tem sido bem documentada. Não há desvio para a esquerda e o compartimento de estoque na medula óssea aparece normal ao exame.

D. Neutropenia por sequestração

Ocorre com o choque anafilático e endotoxemia, causando um rápido desvio para compartimento marginal. As endotoxinas causam efeito via ativação do complemento, resultando na agregação e sequestração dos neutrófilos e plaquetas nos capilares pulmonares.

As principais causas de leucocitoses e leucopenias estão apresentadas a seguir na tabela 6.1.

Tabela 6.1. Causas de leucocitoses e leucopenias

	PRINCIPAIS CAUSAS
Leucocitose	Infecção bacteriana; efeito de esteróides; desordens linfoproliferativas; Peritonite Infecciosa Felina; necrose tecidual e severa inflamação; prenhez e parição em cadelas; desordens mieloproliferativas; hipertireoidismo em gatos
Leucopenia	Doenças virais; severa infecção bacteriana; anafilaxia; drogas e químicos tóxicos; neoplasias de medula óssea; toxemias endógenas: uremia; Toxoplasmose / Ehrlichiose / Leishmaniose

Diferencial de Leucócitos

O diferencial leucocitário é realizado no exame do esfregaço sanguíneo, em contagem percentual de 100 leucócitos. Há uma técnica padrão para a confecção do esfregaço sanguíneo e leitura diferencial leucocitária, para que se tenha homogeneidade dos resultados. Um esfregaço com sangue mal homogeneizado, principalmente em cavalos, poderá trazer diferenças diagnósticas pela desuniformidade na distribuição dos leucócitos na lâmina.

6. 5. Classificação dos desvios de Neutrófilos**A. Desvio à esquerda**

Normalmente o sangue periférico contém pequeno número de neutrófilos imaturos. Em muitas espécies este consiste de menos de 300 bastonetes/ μ l de sangue. O aumento da liberação da medula óssea de neutrófilos imaturos para o sangue ocorre quando aumenta a demanda funcional de neutrófilos para os tecidos ou em casos de leucemias mielógenas ou mielomonocíticas agudas ou crônicas. A presença de neutrófilos imaturos no sangue, acima do número normal para a espécie, constitui um desvio à esquerda. A extensão do desvio à esquerda indica a severidade da doença, entretanto a magnitude da contagem de células reflete a habilidade da medula óssea para suprir a demanda.

Desvio à esquerda regenerativo

A contagem total de leucócitos é moderadamente ou marcadamente elevada por causa da neutrofilia e o número de neutrófilos imaturos (bastonetes) encontra-se abaixo do número de neutrófilos maduros (segmentados). Isto indica uma boa resposta do hospedeiro, e ocorre quando a medula óssea tem tempo suficiente (usualmente 3-5 dias) para responder à demanda tecidual aumentada de neutrófilos.

Desvio à esquerda degenerativo

A contagem total de leucócitos varia, podendo ser normal, abaixo do normal ou moderadamente elevada. A resposta principal é a presença de neutrófilos imaturos acima dos neutrófilos maduros. O desvio degenerativo à esquerda indica que a medula óssea, para o momento, tem um esgotamento no compartimento de reserva de neutrófilos segmentados e conseqüentemente ocorre a liberação de células imaturas, ultrapassando os neutrófilos maduros. Em muitas espécies isso é um sinal de prognóstico desfavorável que requer um rigoroso protocolo terapêutico. No entanto, em bovinos o desvio à esquerda degenerativo é comum durante o estágio inicial de doenças infecciosas ou inflamatórias hiperagudas a agudas. Isso ocorre, provavelmente, devido ao compartimento de reserva da medula óssea de bovinos ter um suprimento limitado de neutrófilos maduros. Sendo assim, o desvio à esquerda degenerativo em bovinos não deve ser considerado como um sinal sério no prognóstico, a não

ser que este tenha persistido por vários dias.

B. Desvio à direita

É a presença no sangue circulante de vários neutrófilos hipersegmentados, isto é; neutrófilos com mais de 5 lóbulos. A hipersegmentação nuclear ocorre devido a presença circulante de corticosteróides, tanto endógenos como exógenos. A deficiência da Vitamina B₁₂ também pode levar a hipersegmentação, mas é uma condição muito rara.

C. Reação leucemóide

A reação leucemóide é geralmente uma leucocitose reativa, consistindo de uma alta contagem de leucócitos com uma contagem absoluta de um tipo de leucócito, ou também um acentuado a extremo desvio à esquerda sugestivo de leucemia. Portanto, é um processo patológico benigno, embora se assemelhe a leucemia granulocítica. Geralmente a reação leucemóide envolvendo os neutrófilos é similar ao desvio à esquerda regenerativo e, infreqüentemente, um severo desvio à esquerda degenerativo pode dar esta indicação. Ocasionalmente, o quadro sangüíneo leucemóide pode envolver outros tipos de leucócitos, como os linfócitos ou eosinófilos. Os resultados laboratoriais e a avaliação do paciente revelam que a doença não é uma leucemia. Exemplos de reações leucemóides:

- extremo desvio à esquerda regenerativo visto na piometra e peritonite ativa crônica em cães;
- acentuada linfocitose em condições supurativas crônicas como, por exemplo, reticulite traumática.

6. 6. Alterações leucocitárias quantitativas

As alterações quantitativas dos leucócitos são a leucocitose e a leucopenia. Para avaliar estas alterações é fundamental ter em mente os valores normais da espécie considerada, visto que normalmente a leucocitose no cão é devido à neutrofilia, e nos bovinos pode ser pela linfocitose. Essas alterações serão apresentadas a seguir, dentro de cada série de leucócitos.

A. Neutrófilos Segmentados

Normal do cão: Ausência de Mielócitos e Metamielócitos

Bastonetes: 0 -3% (0 - 300/ μ l)

Neutrófilos: 60 - 77 (3 a 11.500/ μ l)

TABELA 6.2. Alterações orgânicas que levam a neutrofilia e neutropenia

Leucocitose associada a neutrofilia	Leucopenia associada a neutropenia
Infecções locais ou generalizadas	Degeneração
Intoxicações	Depressão
Reabsorção tecidual	Depleção ou exaustão
Leucemias	Destruição
Corticóides	

O corticóide atua na neutrofilia de diversas formas:

- Prolongando a meia vida dos neutrófilos;
- Retendo mais tempo os neutrófilos na circulação, impedindo-os de sair para os tecidos;
- Liberando os neutrófilos da parede vascular (Compartimento marginal);
- Liberando neutrófilos da medula óssea (Compartimento de armazenamento).

A leucopenia por neutropenia pode ser causada por:

Degeneração: o agente ou toxina compromete o compartimento de maturação, causando, portanto predominância de células jovens.

Depressão: principalmente doenças crônicas, comprometendo o compartimento de multiplicação, causando predominância de células adultas.

Depleção ou exaustão: causada geralmente por consumo agudo, pelo grande afluxo de neutrófilos para o local de inflamação. Ocorre na mastite bovina e cólica eqüina. A leucopenia

é geralmente transitória, com neutrofilia responsiva em 2 a 4 dias.

Destruição: caracterizada por pancitopenia, isto é, diminuição de todas as células sanguíneas. Causado por drogas, infecção bacteriana grave, etc.

TABELA 6.3. Causas de neutrofilias e neutropenias

Neutrofilia	a. Fisiológica Adrenalina (medo, excitação) Glicocorticóides endógenos e exógenos (trauma, dor, hiperadrenocorticism, estresse crônico severo) b. Reativa Infecções estabelecidas local ou sistêmica (bacteriana, viral, fúngica, parasitária) Necrose tecidual Doenças imuno-mediadas (inflamatória: artrite reumatóide e não inflamatória: anemia hemolítica autoimune) Tumores Toxicidade por estrógeno (inicial) c. Proliferativas Leucemia mielóide aguda ou crônica
Neutropenia	a. Sobrevivência diminuída Infecção bacteriana aguda Septicemia Toxemia Anafilaxia Esplenomegalia b. Produção diminuída Infecções agudas (Bacteriana, viral e riquetsias como <i>Ehrlichia</i>) Drogas e químicos tóxicos (estrógeno) Radiação Leucemia mielóide ou linfóide Hematopoiese cíclica canina c. Granulopoiese ineficaz aumentada Vírus da leucemia felina Mieloptise Leucemia mielóide ou linfóide

B. Eosinófilos

Normal do cão: 2 - 10% (100 a 1.250/ μ l)

TABELA 6.4. Causas de eosinofilia e eosinopenia

Eosinofilia	Perda Tecidual crônica, especialmente reações alérgicas; parasitismo (migração / respiratórios / hipersensibilidade cutânea / microfilária); hipoadrenocorticism; terapia por drogas; estro em cadelas; predisposição racial; desordens purulentas; eosinofilia reacional
Eosinopenia	Estresse agudo (adrenalina); estresse crônico (glicocorticóides endógenos); hiperadrenocorticism; administração de esteróides; inflamações/infecções agudas.

C. Basófilos

Causas de Basofilia: dermatites alérgicas, eczemas e reações de hipersensibilidade.

D. Monócitos

Normal do cão: 3 - 10% (150 a 1.350/ μ l)

gato: 1 - 4 (0 a 850/ μ l)

Causas de Monocitose

Efeitos esteróides	Inflamação/ infecção aguda ou crônica
Hiperadrenocorticismo	Outras doenças causando dano e necrose tecidual
Administração de esteróides/ACTH	Produção reduzida de granulócitos
Estresse severo – piometra	Animais idosos
Doenças imunomediadas	Leucemia monocítica ou mielomonocítica

E. Linfócitos

Normal do cão: 12 - 30% (1.000 a 4.800/ μ l)

TABELA 6.5. Causas de linfocitose e linfopenia

Linfocitose	Linfopenia
Idade: animais jovens	Efeitos esteróides (Hiperadenocorticismo, Administração de corticóides / ACTH, Estresse severo)
Fisiológico: medo / excitação / esforço	Infecção Sistêmica Aguda
Leucemia linfocítica ou linfossarcoma	Viral recente (cinomose)
Vírus da imunodeficiência felina	Bacteriana severa ou incomum
Estimulação antigênica prolongada	Toxoplasmose / Ehrlichiose / Leishmaniose
Infecção crônica	Perda de linfócitos
Hipersensibilidade	Lesão de linfonodos
Doenças auto-imunes	neoplasias
Pós-vacinação	inflamação crônica
Hipoadrenocorticismo	Deficiência adquirida de linfócitos T (raro)
Terapia com drogas	Quimioterapia imunossupressiva
	Radiação
	Imunodeficiência hereditária (raro)
	Atrofia linfóide
	Demodicose generalizada

Os corticóides (endógenos e exógenos) atuam de várias formas na linfopenia e conseqüente imunodepressão, tais como inibindo a mitose linfocitária, lisando linfócitos circulantes, reduzindo a liberação de histamina, estimulando o catabolismo protéico, reduzindo formação de anticorpos e recirculação (circulação sanguínea para a circulação linfática).

6. 7. Alterações leucocitárias qualitativas

Muito embora haja os contadores automáticos para facilitar a confecção do leucograma, a tecnologia eletrônica é falha na identificação de anomalias, células imaturas da linhagem mielóide e hemoparasitas; isto significa menos de 50% dos casos, mas tende a se agravar quando são utilizados laboratórios de análises humanas. Deste modo torna-se indispensável a experiência citológica à leitura do esfregaço sanguíneo. O Corpúsculo de Baar é um prolongamento característico do núcleo dos neutrófilos e representa a cromatina sexual da fêmea, sendo de ocorrência normal e de grande auxílio na conferência do exame.

A. Granulação tóxica

Granulação tóxica e/ou difusa basofilia citoplasmática acontece quando há continuado estímulo à granulopoiese, pela extensão e/ou duração de um processo inflamatório, há diminuição dos prazos de maturação das células precursoras, e os neutrófilos chegam ao sangue com persistência da granulação primária, própria dos pró-mielócitos, normalmente substituída pela granulação secundária, tênue e característica. Os grânulos primários são ricos em enzimas e coram-se em pardo escuro com os corantes usuais, e impropriamente denominados de granulações tóxicas. A verdade é que a presença destes grânulos exprime a duração e gravidade de um processo inflamatório, mas é exagero atribuir a esta ocorrência um significado prognóstico.

B. Corpúsculos de Döhle

São áreas, na periferia dos neutrófilos, nas quais houve liquefação do retículo endoplasmático. São de rara ocorrência, mas possuem interesse diagnóstico por refletirem infecções graves e/ou sistêmicas.

C. Neutrófilos multissegmentados

No sangue normalmente predominam os neutrófilos com 2 a 4 lóbulos nucleares, havendo poucos com cinco ou mais. O aumento ou predomínio de neutrófilos com mais de cinco lóbulos - multissegmentados - é visto quando há uma maior permanência destes na circulação. Esta sobrevida intravascular prolongada caracteriza o desvio à direita. Isto acontece na insuficiência renal crônica, neutrofilias de longa duração, tratamentos com corticóides ou estresse, defeitos genéticos raros ou em síndromes mieloproliferativas, degeneração em amostras envelhecidas.

D. Linfócitos ativados

A ocorrência de linfócitos ativados acontece quando há um estímulo da série linfocitária, com o aparecimento de linfócitos com citoplasma aumentado e basofílico, em parte seguindo a diferenciação para plasmócitos, cuja presença é rara na circulação. A ativação de linfócitos na circulação deve-se principalmente a uma exacerbada resposta humoral ou a uma leucemia de células plasmocitárias (Mieloma Múltiplo).

E. Inclusões e outros achados

Corpúsculo de Lentz: corpúsculo eosinofílico no citoplasma de leucócitos patognomônico da cinomose canina. Sua ocorrência se limita à fase de viremia do processo infeccioso, sendo, portanto de pouca sensibilidade diagnóstica.

Ehrlichia canis: mórula basofílica no interior de leucócitos característica da erliquiose.

Hepatozoon canis: inclusão semelhante a um cubo de gelo encontrada no interior de leucócitos de cães. Ainda podem ser encontrados: **Toxoplasma**, **Leishmania**, **Histoplasma**, **Microfilárias:** Dirofilaria immitis e Diptalonema.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 6: diferencial leucocitário

DIFERENCIAL LEUCOCITÁRIO

Esfregaço sangüíneo

- Preparar duas lâminas novas e desengorduradas, sendo uma com os cantos arredondados;
- Homogeneizar o sangue no frasco de colheita fechado, por inversão, e colocar com o capilar do micro-hematócrito, antes de fechá-lo, uma gota de sangue na lâmina;
- Colocar a outra lâmina (recortada) à frente da gota de sangue, num ângulo de 45°. Fazer um ligeiro movimento para trás até o sangue espalhar -se pela lâmina;
- Com um movimento uniforme, para frente, fazer esta lâmina deslizar sobre a outra. O sangue se estenderá por sobre a lâmina, formando o esfregaço;
- Agitar o esfregaço até secá-lo completamente e identificá-lo com lápis na borda mais espessa do esfregaço.

Corante de Leishmann

- **Corante:** diluir 1,5g de Eosina-Azul de Metileno segundo Leishmann em 1 litro de metanol. Colocar em banho-maria a 37 °C por 24 horas. Acondicionar em frasco âmbar. Maturar o corante deixando-o em repouso por 1 semana, ao abrigo da luz. Corrigir o pH, se necessário, para 7,6. Filtrar e usar.
- **Coloração:** colocar 20 gotas do corante e deixar agir por 3 minutos. Acrescentar 20 a 25 gotas de água destilada tamponada (pH \pm 7,2). Deixar agir por 15 minutos. Lavar em água corrente e secar.

Contagem

- Observar o esfregaço sanguíneo corado em objetiva de 40x (aumento de 400x), verificando a contagem global aproximada por estimativa de leucócitos / campo;
- Visualizar também homogeneidade na distribuição leucocitária;
- Colocar em objetiva de imersão (aumento de 1000x) e realizar observação minuciosa da morfologia e coloração dos leucócitos e demais estruturas;
- Realizar contagem diferencial de leucócitos em forma de “torre” a cada 3 ou 4 campos, até atingir o total de 100 leucócitos (figura 6.3);
- Transformar os dados relativos obtidos nesta contagem em dados absolutos, através da multiplicação dos percentuais parciais pelo número total de leucócitos.

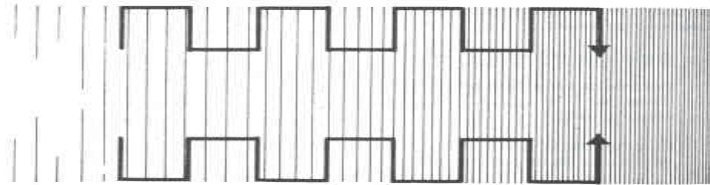


FIGURA 6.3. Esfregaço sanguíneo - contagem em torre.

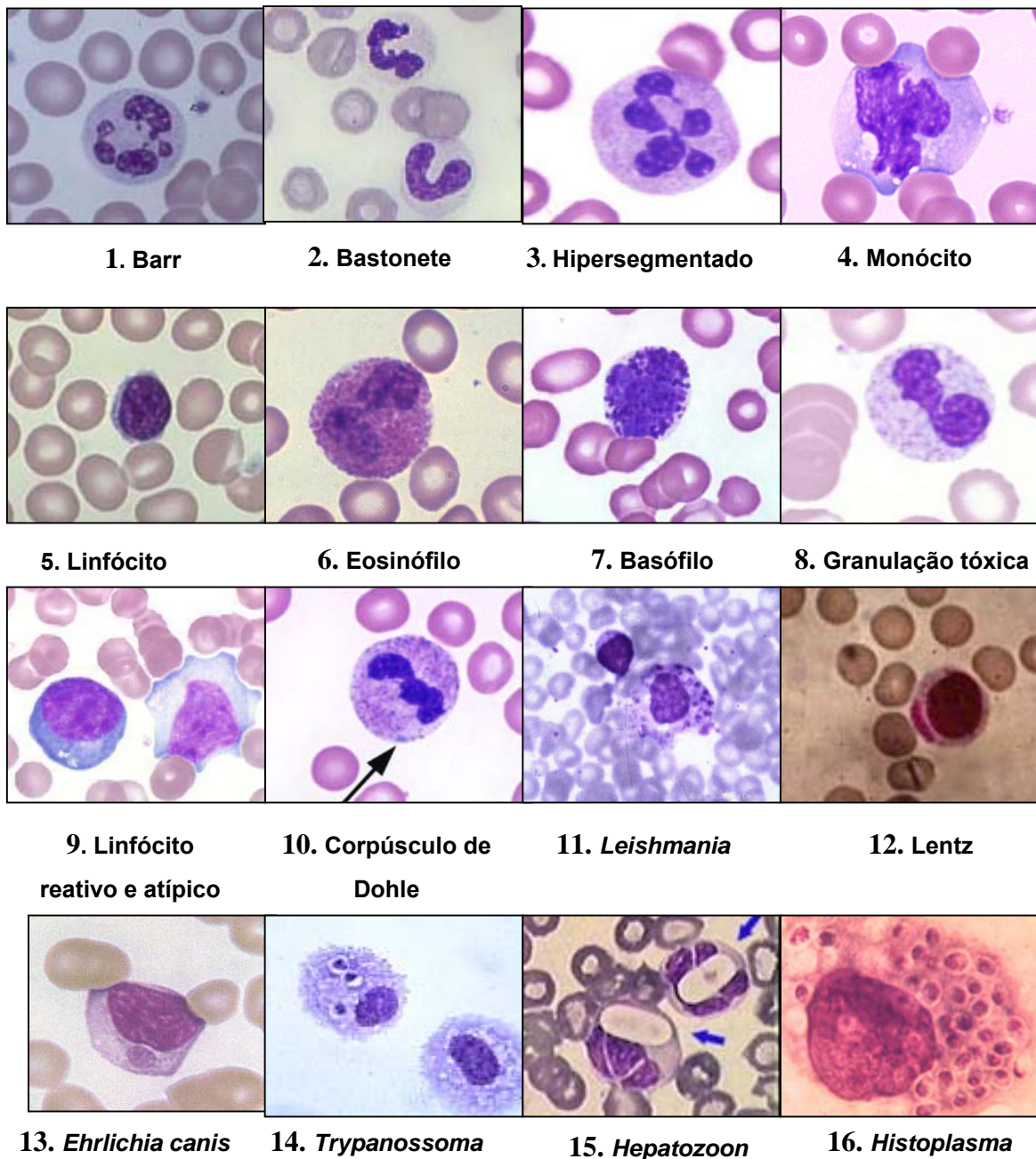


FIGURA 6.2. Leucócitos, inclusões, protozoários, riquetsias e fungos.

PARTE 7: HEMOSTASIA

7. 1. Introdução

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

7. 2. Vasos sanguíneos

O endotélio é inerte, mas quando o sangue é exposto ao colágeno sub-endotelial, os mecanismos hemostáticos são ativados com conseqüente adesão e agregação plaquetária, liberação de mediadores e em seguida a ativação do fator XII (hemostasia secundária). Além disso, as células endoteliais são ricas em tromboplastina que também ativam o sistema de coagulação.

Desordens vasculares podem ocorrer por problemas congênitos (raro) como a deficiência de colágeno ou adquiridos como em uma extensa lesão por desordens inflamatórias, imunes ou tumores. Dentre as causas adquiridas destacam-se as desordens inflamatórias – como as causadas por bactéria, vírus, etc; desordem imune e tumores, trauma.

O diagnóstico de desordem vascular é feito quando os problemas plaquetários e de coagulação são descartados. Não existe técnica laboratorial que meça o status funcional dos vasos sanguíneos diretamente, suspeita-se de distúrbios vasculares em animais com hemorragias superficiais em que os demais testes da coagulação estão normais.

7. 3. Hemostasia primária: vasos e plaquetas

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

A. Cinética plaquetária

As plaquetas são formadas na medula óssea, a partir da célula pluripotencial (*stem cell*), que vai dar origem a linha megacariocítica. A primeira célula da linha dos megacariócitos é o **megacarioblasto** que vai formar o **pró-megacariócito** e **megacariócito**. A divisão celular cessa, mas a divisão nuclear continua. Pode-se encontrar células de 4 a 64 núcleos. Este processo é chamado endomitose. As plaquetas são pequenos fragmentos do citoplasma do megacariócito liberados na corrente sanguínea. O citoplasma do megacariócito é formado por longos pseudopodes que penetram nos sinusóides das células endoteliais, liberando as plaquetas que são observadas como pequenos discos com grânulos vermelhos com 2 a 5 μm de diâmetro (em gatos o tamanho é variável) na circulação sanguínea.

Após o estímulo, as plaquetas aparecem entre 3 e 5 dias, e são controladas pela trombopoetina e também pela eritropoetina, possuem uma vida média em torno de 8 dias, sendo que cerca de um terço das plaquetas são seqüestradas pelo baço. O valor normal de plaquetas é em torno de 300.000/ μL , sendo que menos que 100.000/ μL é claramente uma trombocitopenia, até 50.000/ μL é suficiente para prevenir hemorragia e com 30.000/ μL ou menos espera-se observar inclusive hemorragia espontânea.

B. Função plaquetária

A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com as células endoteliais mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e liberação plaquetária são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, dependendo das condições de estímulos e circunstâncias. O transtorno de qualquer um destes processos pode levar a desordens hemorrágicas. A **adesão** é a aderência das plaquetas no local da lesão. Esta adesão plaquetária ao endotélio é efetuada por meio de seus receptores de superfície para o colágeno e Fator de von Willebrand que o liga plaqueta ao colágeno do subendotélio. A **agregação** é uma resposta básica para a liberação de ADP (adenosina difosfato) na presença do cálcio e é mediada pelo fibrinogênio presente no plasma. A compactação do agregado se dá pela contração dos filamentos de actinmiosina presentes no citoplasma plaquetário. A reação de **liberação** promove a agregação de agrupamentos plaquetários e o acúmulo de mais plaquetas e assim uma série de reações em cadeia para formar uma capa para deter a hemorragia.

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

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

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

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

Função resumo

- **Adesão** – é a aderência das plaquetas no local da lesão. É efetuada por meio de seus receptores de superfície para o colágeno e facilitada pelo FvW que liga a plaqueta ao colágeno do subendotélio.
- **Liberação** – promove vasoconstrição local e agregação plaquetária.
- **Agregação** – Significa a ligação entre as plaquetas e é uma resposta à liberação de ADP na presença do cálcio.

7. 4. Hemostasia secundária: fatores de coagulação

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

A. Cascata de coagulação

A cascata de coagulação é um mecanismo complexo de reações seqüenciais que culmina na formação de fibrina a partir do fibrinogênio. O conjunto de fatores que atuam na coagulação, a maioria proteases, está representado na tabela 7.1. Os fatores de coagulação são ativados predominantemente por exposição à tromboplastina tecidual, expressada na superfície das células endoteliais ou fibroblastos extravasculares. Logo após a ativação inicial, os fatores vão se ativando seqüencialmente e amplificando o estímulo inicial por *feedback*. A cascata de coagulação tradicionalmente se divide em sistema intrínseco, extrínseco e comum (figura 7.1).

O **sistema intrínseco** é a via que se inicia pelo contato do sangue com o colágeno do subendotélio da parede vascular traumatizada ou corpo estranho. Neste momento ocorre a ativação plaquetária e do fator XII que se ativa e subseqüentemente ativa o fator XI (para essa reação é necessária a presença de cininogênio de alto peso molecular, calicreína e

precalicreína) este ativa o fator IX que ativa o fator VIII.

O **sistema extrínseco** se inicia por lesão vascular ou contato com tecido extravascular que contém uma proteína de membrana denominada fator tecidual. O tecido danificado também libera tromboplastina que ativa o fator VII (sistema extrínseco da coagulação).

Tabela 7.1. Fatores de coagulação

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

Fonte: modificado de Thrall et al. (2004)

A ativação destes fatores, mais a presença de fosfolipídios plaquetários e cálcio dão início ao **sistema comum**, pela ativação do fator X que em conjunto com esses fatores ativam a protrombina (fator II) que se converte em trombina (fator II ativado) que converte o fibrinogênio em fibrina. Após esta conversão, o fator XIII confere estabilidade a esta fibrina através de ligações covalentes entre seus monômeros resultando numa malha firme de fibrina sobre o endotélio lesado e o tampão plaquetário. A trombina é um potente pró-coagulante capaz de acelerar as reações da cascata formando grandes quantidades de fibrina. Recentemente um novo esquema, onde a ativação inicial pela tromboplastina tecidual que forma uma quantidade de trombina, que daria início à amplificação e ativação dos sistemas intrínseco, extrínseco e comum foi sugerido.

A vitamina K é essencial na formação de várias proteínas da coagulação. Os fatores chamados vitamina K dependentes são: II, VII, IX e X que estão distribuídos nos três sistemas da cascata de coagulação. São sintetizados em uma forma afuncional (acarboxiladas) e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator produzindo centro de ligação para o cálcio, necessário para sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (vitamina K-epóxido). A enzima epóxido-redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa, razão pela qual a necessidade diária de vitamina K é pequena.

Desordens na cascata de coagulação conferem ao animal uma **coagulopatia**.

CASCATA DE COAGULAÇÃO

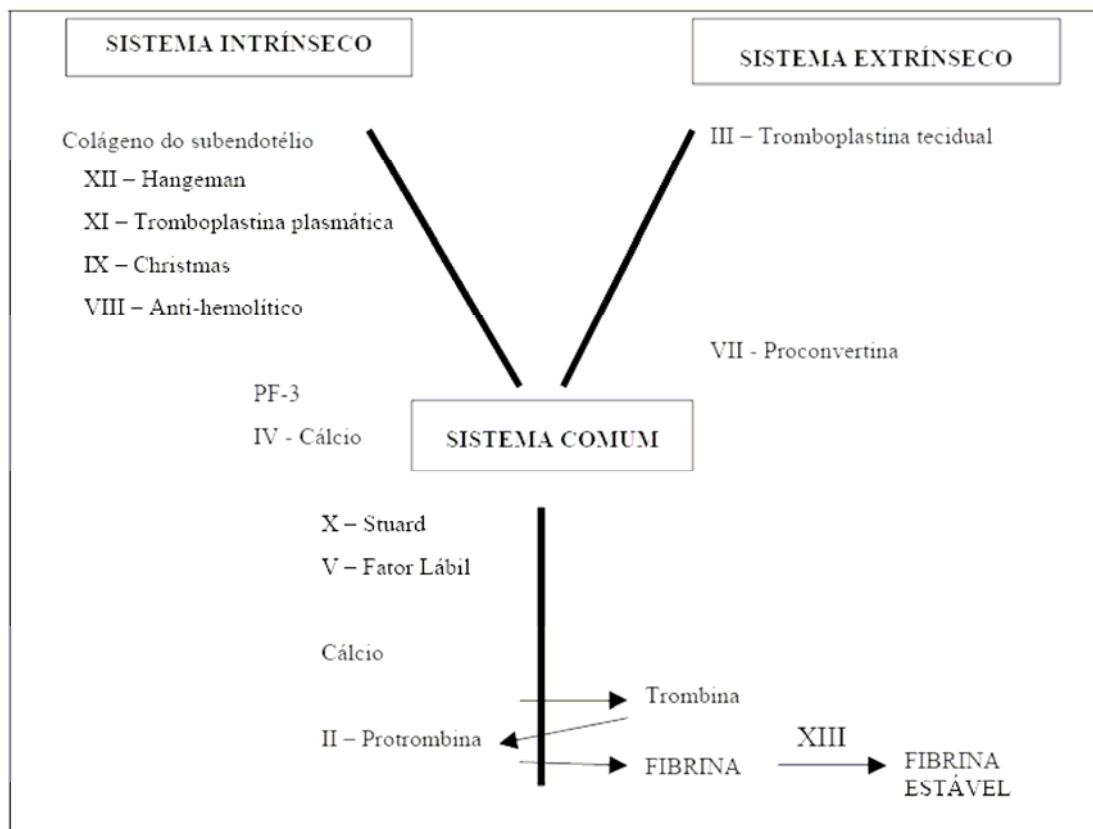


Figura 7.1. Esquema simplificado da cascata de coagulação.

7. 5. Hemostasia terciária: fibrinólise

A fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas. A plasmina atua localmente no interior do coágulo degradando a fibrina e é imediatamente removida da circulação por líquidos orgânicos sistêmicos.

Os produtos de degradação da fibrina (PDFs) formados pela ação da plasmina sobre a fibrina, são removidos por macrófagos.

7. 6. Testes laboratoriais para desordens hemostáticas

A seguir estão os testes mínimos a serem realizados para distúrbios hemostáticos. Outros testes específicos podem ser indicados após o resultado dos preliminares.

A. Contagem de plaquetas

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

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

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

A avaliação da morfologia das plaquetas também deve ser feita, a presença de macroplaquetas ou agregados plaquetários exerce influência sobre a contagem e função plaquetária e por isso devem ser descritos no laudo. Os valores normais de plaquetas/ μ L são: Cão: 200.000 a 500.000; Gato: 200.000 a 500.000; Equino: 100.000 a 600.000 e Bovino: 200.000 a 800.000.

B. Avaliação de medula óssea

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

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

A avaliação da medula óssea é contra indicada nos casos de coagulopatias severas. Pode ser indicada em casos de trombocitopenia para procurar o mecanismo. Megacariócitos presentes: destruição ou consumo de plaquetas (devem estar aumentadas). Megacariócitos ausentes com maturação anormal: produção diminuída ou destruição de megacariócitos.

C. Teste de função plaquetária

Tempo de sangramento da mucosa oral (TSMO) – tempo de sangria

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

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

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

D. Tempos de coagulação

Tempo de coagulação ativado (TCa)

É um teste bastante utilizado na clínica veterinária por ser rápido e de fácil execução. É baseado na ativação da coagulação pelo contato do sangue venoso com ativadores de contato, portanto avalia o sistema intrínseco e comum da coagulação.

O método consiste em adicionar 2mL de sangue venoso em um tubo estéril, pré aquecido a 37°C contendo proteínas de contato. Após a adição do sangue deve-se colocar o tubo em banho-maria observando-o a cada 5 a 10 segundos até a formação do coágulo. O resultado do teste consiste no tempo decorrido da adição do sangue a formação do coágulo e é medido em segundos. É pouco sensível, necessita muita atenção e ausência de contaminação com tromboplastina tecidual. Animais com trombocitopenia severa também podem alterar o TCa. Anticoagulantes, alguns antibióticos, salicilatos e barbitúricos também podem prolongar o teste. Valores normais de TCa (segundos): Cão: 60 a 90, Equino: 145 a 181 e Bovino: 127 a 163.

Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa)

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

O TTPa é o tempo que o plasma leva para formar coágulo de fibrina após a mistura com cefalina (tromboplastina parcial), caolim (ativa fator XII) e cálcio. A cefalina é um substituto do fator plaquetário. Avalia o sistema intrínseco e comum. Requer amostra em citrato de sódio a 3,8% na relação de 1:9 (anticoagulante:sangue) e plasma separado por centrifugação. Este

teste mede a deficiência de fatores abaixo de 30%. Valores normais de TTPa (segundos): Cão: 6 a 16; Gato: 9 a 20; Equino: 27 a 45 e Bovino: 20 a 35.

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

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

Tempo de protrombina (TP)

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

Método: Faz-se a adição de tromboplastina tecidual (fator extrínseco) conseqüente recalcificação da amostra, cronometrando o tempo até a formação do coágulo de fibrina. Valores normais de TP (segundos): Cão: 6,4 a 7,4; Gato: 7 a 11,5 e Equino: 9,5 a 11,5.

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

E. Fibrinólise

Produtos de degradação da fibrina (PDF)

A fibrina é quebrada pela plasmina em fragmentos. O aumento de PDFs indicam excessiva fibrinólise. O método utiliza aglutinação em látex por *kits* comerciais, é principalmente utilizado para diagnóstico de CID, mas também pode estar aumentado após cirurgia. Os valores normais são Cão: < 40µg/mL; Gato: < 8µg/mL e Equino: < 16µg/mL.

Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma proteína de coagulação (fator I da coagulação) produzida pelo fígado. Também é chamado de proteína de fase aguda porque sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos inflamatórios. A amostra de sangue deve ser coletada com EDTA a 10%. O método consiste no aquecimento do plasma a 56-58°C por 3 minutos e posterior centrifugação. O aquecimento do plasma precipita o fibrinogênio e a centrifugação o separa dos demais constituintes plasmáticos. Faz-se então a leitura das proteínas plasmáticas totais por refratometria e posteriormente a leitura do plasma com o fibrinogênio precipitado. A diferença dos valores obtidos refere-se a concentração de fibrinogênio plasmático. Está diminuído na CID. Valores normais de fibrinogênio (g/L): Cão: 1 a 5; Gato: 0,5 a 3; Cavalos: 1 a 4; Bovinos: 2 a 7.

7. 7. Distúrbios hemostáticos

A. Desordens plaquetárias

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

Desordens plaquetárias quantitativas

Trombocitose

É o aumento do número de plaquetas acima do valor de referência para a espécie. A trombocitose pode ser reativa ou primária e ocorre com menos freqüência. As causas incluem resposta: Reativa: doença crônica, deficiência de ferro, hiperadrenocorticism, neoplasias, desordens no trato digestivo e doenças endócrinas; Transitória: mobilização esplênica ou pulmonar (exercício); e Trombocitose maligna: leucemia granulocítica megacariocítica.

Trombocitopenia

É a diminuição do número de plaquetas abaixo do valor de referência para a espécie. A trombocitopenia é a anormalidade mais comum encontrada nas plaquetas e provavelmente é a causa mais comum de diátese hemorrágica. São cinco os mecanismos que podem levar a uma trombocitopenia:

1. Produção diminuída de plaquetas: Está relacionada com problemas ligados à medula óssea onde os megacariócitos se encontram reduzidos e geralmente cursa com pancitopenia. É indicado, portanto fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial. Dentre as causas mais comuns, estão as seguintes:

1.1. Mieloptise (geralmente pancitopenia): Células neoplásicas, Mielofibrose.

1.2. Drogas (geralmente pancitopenia): quimioterapia – antagonistas do ácido fólico (vitamina B₁₂), excesso de estrógeno – megacariocitopenia reduzida e antibióticos e agentes antifúngicos.

1.3. Estágios crônicos de doenças infecciosas: infecção por *Ehrlichia canis*: na fase crônica causa hipoplasia medular, destruição imunomediada de precursores megacariocíticos.

1.4. Redução seletiva de plaquetas (pancitopenia pode não estar presente): raros, e inclui produção defeituosa de trombopoetina e hereditariedade ou congénica.

2. Destruição de plaquetas: É a diminuição das plaquetas na circulação por causas externas à medula óssea. Os megacariócitos se encontram aumentados. É indicado fazer uma avaliação de medula óssea para diagnóstico diferencial de problema de produção. O principal mecanismo é a retirada das plaquetas da circulação pelo sistema mononuclear fagocitário (SMF). Dentre as causas mais comuns, estão os processos envolvendo Infecção (produtos de endotoxinas, bactérias, vírus), infecção por *Ehrlichia canis* na fase aguda e *Anaplasma platys*, tumores (hemangioma e hemangiossarcoma), imunomediada ou auto-imune, e ainda por drogas: podem servir como carreadoras de proteínas as quais revestem as plaquetas e são reconhecidas por anticorpos. Removidas pelo SMF.

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

4. Seqüestro ou distribuição anormal de plaquetas: As principais causas são: esplenomegalia, hepatomegalia, hipotermia, endotoxemia, neoplasia.

5. Perda de plaquetas: ocorre devido à perda massiva de sangue ou transfusão incompatível.

Desordens plaquetárias qualitativas (trombocitopatias)

As desordens plaquetárias qualitativas podem ser congênitas ou adquiridas. Se um animal tem trombocitopatia, isto implica que existe uma falha no mecanismo de aderência (plaqueta + vaso), uma falha na liberação de constituintes intracelulares, falha no mecanismo de agregação (plaqueta + plaqueta), fosfolípido (FP-3), ou qualquer combinação destes fatores. O número de plaquetas pode estar normal.

Desordens congênitas

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

Tipo I: multímeros normais, mas diminuídos. Severidade variável é a forma mais comum, comum em Dobermanns; **Tipo II:** multímeros com defeito de função, de severidade variável, comum em Pointer Alemão; **Tipo III:** forma mais severa, comum no Scottish Terrier.

2. Trombopatia trombastênica canina: falha na agregação, ocorre em Otter hounds, Scottish

terriers, foxhounds.

3. Síndrome do Chediak-Higashi: grânulos lisossômicos gigantes, com agregação plaquetária diminuída, observada em bovinos e gatos.

Desordens adquiridas

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

1. Doença renal com uremia: adesividade reduzida ao endotélio. Esta anormalidade das plaquetas se deve aos metabólitos da uréia como o ácido guanidino succínico e fenólico.

2. Coagulação intravascular disseminada (CID): Os produtos de degradação da fibrina formados na CID envolvem as plaquetas e reduzem a sua aderência além de bloquearem os receptores de fibrinogênio, reduzindo a agregação. Também ocorre trombocitopenia, consumo dos fatores de coagulação e aumento dos PDFs.

3. Disproteinemias (macroglobulinemia) ou mieloma múltiplo: Afetam a membrana da plaqueta diminuindo a aderência.

4. Drogas

4.1. Antiinflamatórios não esteroidais: **A.** Ácido acetilsalicílico: Inibe Tromboxano A₂ (iniciador da agregação plaquetária). A inibição é irreversível, portanto a função plaquetária fica dependente de uma nova produção. **B.** Ibuprofeno, fenilbutazona e indometacina causam inibição plaquetária reversível.

4.2. Outras drogas: Sulfonamidas, penicilinas, tranqüilizantes prozamínicos causam respostas variáveis.

B. Coagulopatias

O termo coagulopatia refere-se à deficiência ou defeito de um ou mais fatores da coagulação. Estas podem ser congêntas ou adquiridas e geralmente estão associadas à falha na síntese dos fatores de coagulação

Coagulopatias hereditárias

São causadas por problemas de conteúdo genético. Sempre suspeitar quando frente a animais jovens, com raça definida que apresentem diátese hemorrágica.

Hemofilia A – Fator VIII

Conhecida também como hemofilia clássica, a hemofilia A se caracteriza pela ausência do fator VIII da coagulação ou globulina anti-hemofílica e acomete principalmente animais jovens. É uma doença congênita hereditária caracterizada por hemorragias espontâneas ou causadas pelos menores traumatismos. Causa sangramento severo em cães, cavalos, gatos e bovinos Hereford. Também pode ocorrer hemartrose, hematomas e sangramento pelo trato gastrointestinal e urogenital.

É referida como uma doença recessiva ligada ao cromossomo x, o que significa que o gene defeituoso está localizado no cromossomo feminino ou “x” agindo como caracteres recessivos ligados ao sexo, portanto afetando apenas machos. O tratamento é feito por transfusão de sangue fresco, plasma ou crioprecipitado. A argenina-vasopressina sintética (DDAVP) pode promover a liberação do fator VIII dos hepatócitos para a circulação. O diagnóstico laboratorial inclui Tempo de sangramento normal (diferencial de vWD), TP normal e TTPa prolongado.

Hemofilia B – Fator IX

É também conhecida como doença de Christmas e se caracteriza pela ausência do fator hemofílico B ou fator IX. Assim como na hemofilia A é ligada ao sexo e afeta somente machos, com ocorrência rara em cães e gatos. O perfil de diagnóstico é semelhante a hemofilia A, para diferencia-las e necessário testes específicos em laboratórios especializados. O diagnóstico laboratorial é feito com Tempo de sangramento: normal, TP: normal e TTPa: prolongado.

Doença de von Willebrand – (DvW)

A DvW é uma trombocitopatia hereditária que em quadros severos afeta a estabilidade do fator VIII gerando uma coagulopatia apesar do fator VIII não estar deficiente. É a mais comum das coagulopatias congênitas (54 raças). O diagnóstico é obtido tendo-se Tempo de sangramento prolongado (diferente das hemofilias), TP: normal, TTPa: prolongado.

Outros fatores:

Deficiência de fator VII - sistema extrínseco: Afeta várias raças de cães, principalmente os Beagles. No diagnóstico observa-se TP: prolongado e TTPa: normal.

Deficiência de fator XII - sistema intrínseco: as principais raças de cães afetadas são: poodle, pointer alemão e sharpei. Também afeta gatos. Diagnóstico com TP: normal e TTPa: prolongado.

Deficiência de fator XI - sistema intrínseco: Afeta cães e cabras. Diagnóstico com TP: normal e TTPa: prolongado.

Deficiência de fator X - Sistema comum: Afeta Cocker Spaniel e Jack Russel Terrier. Diagnóstico com TP: prolongado e TTPa: prolongado.

Coagulopatias adquiridas

Deficiência de Vitamina K

A vitamina K é essencial na formação de várias proteínas da coagulação. Os fatores vitamina K-dependentes são: II, VII, IX e X, portanto um problema relacionado com a vitamina K afeta os três sistemas. Esses fatores são sintetizados em uma forma afunção (acarboxiladas) e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator, produzindo centro de ligação para o cálcio, necessário para sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (vitamina K-epóxido). A enzima epóxido-redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa, razão pela qual a necessidade diária de vitamina K é pequena. Dentre as principais causas de problemas hemostáticos relacionados com a vitamina K estão:

- Ingestão de rodenticidas anticoagulantes que levam à inibição desta enzima, e à rápida depleção dos estoques de vitamina K do organismo (ex: warfarina e cumarínicos).
- Deficiência de sais biliares no intestino: impede a absorção da vitamina K que é lipossolúvel.
- Doença hepática pode resultar na falta de utilização da vitamina.

O diagnóstico laboratorial típico inclui TP: prolongado e TTPa: prolongado.

Doença hepática

O fígado é o local de síntese de proteínas da coagulação (fatores protéicos). Problemas de coagulação causados por doença hepática só acontecem em casos severos, nestes casos todos os sistemas da coagulação são afetados, pois todos os sistemas possuem fatores produzidos pelo fígado. Cerca de 50% dos gatos com lipidose hepática podem apresentar problema. O diagnóstico da doença hepática deve ser feito com uma boa avaliação clínico-laboratorial e previamente aos testes de coagulação deve-se utilizar os testes lesão e função hepática, biópsia e punção por agulha fina, diagnóstico por imagem, etc. Devido a meia vida do fator VII ser curta, a determinação da atividade deste fator é utilizada como auxílio diagnóstico de doença hepática aguda ou crônica.

O diagnóstico laboratorial pode incluir TP: prolongado e TTPa: prolongado.

Coagulação Intravascular Disseminada (CID)

É um distúrbio na qual ocorre trombose intravascular difusa com excessiva ativação da coagulação. É uma doença secundária de consumo e deve-se sempre buscar a causa. Ela se manifesta como um defeito hemostático causado pela redução dos fatores da coagulação e plaquetas, resultando da sua utilização no processo trombótico. As propriedades anticoagulantes dos PDFs gerados pela ativação do sistema fibrinolítico também contribuem para o defeito hemostático. Várias doenças ativam a cascata de coagulação, consumindo fatores e plaquetas. Os principais fatores consumidos são: V, VII, e I (fibrinogênio).

As causas incluem: 1. Aumento do contato – ativação do sistema intrínseco (viremia, endotoxemia) e 2. Aumento da Tromboplastina tecidual - ativa sistema extrínseco (trauma/necrose tecidual e hemólise intravascular). Como conseqüências pode haver sangramentos e disfunção de órgãos pela deposição de fibrina, ou ainda anemia hemolítica.

O diagnóstico laboratorial de suspeita inclui TP: prolongado, TTPa/TCa: prolongado, PDF: aumentado, Contagem de Plaquetas: diminuída, Tempo de sangramento: prolongado, Fibrinogênio: diminuído, fragmentos de eritrócitos podem ser vistos no esfregaço sanguíneo.

Acidente ofídico

O veneno das serpentes do gênero *Bothrops* possui ação anticoagulante, proteolítica e vasculotóxica, afetando todas as fases da hemostasia principalmente pelo consumo de fibrinogênio que gera incoagulabilidade sanguínea.

Avaliação clínico-laboratorial

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

Quando um animal apresentar quadro de hemorragias superficiais, aconselha-se a seguir os seguintes passos:

1. Contagem de plaquetas: no caso de uma trombocitopenia, procurar a causa. Os possíveis mecanismos para a trombocitopenia são: produção diminuída, destruição, consumo, seqüestro ou perda. Para diferenciar problemas de produção pode-se fazer aspirado de medula óssea e observar o número e morfologia dos megacariócitos. No caso das plaquetas estarem em número normal, seguir o passo 2.
2. Tempo de sangramento na mucosa oral: no caso do tempo estar prolongado, tem-se uma trombocitopatia, deve-se, portanto diferenciá-la em congênita ou adquirida. No caso do tempo de sangramento estar normal, deve-se suspeitar de desordem vascular.
3. Testes de coagulação: são indicados quando na suspeita de coagulopatias. Coagulopatias congênicas e ou hereditárias são mais frequentes em animais jovens e de raça definida. Os sinais mais comuns são hemorragias e hematomas. Deficiências de fatores de coagulação não tendem a formar petéquias e equimoses, porém os testes plaquetários devem ser realizados previamente, pois trombocitopenias severas podem causar sangramentos confundindo o diagnóstico e deve-se estar atento a coagulopatias adquiridas como CID que afeta as três fases da coagulação e com a DvW que apesar de ser uma trombocitopatia pode gerar sangramento pela interferência no fator VIII da cascata.

7.8. Hemostasia – Aves

Nas aves a hematopoiese se dá fora da medula óssea. O mesênquima embrionário da origem a “ilhas de sangue” de células na aorta e saco vitelínico. Os eritrócitos nas aves são provenientes do endotélio destas ilhas e os trombócitos (semelhante às plaquetas) provavelmente são provenientes da mesma origem, porém de outra linhagem progenitora mononuclear que não a megacariocítica, portanto a trombopoiese nas aves é intravascular. Os trombócitos nas aves são ovais e assim como os eritrócitos possuem núcleo.

Os valores de referência para trombócitos na maioria das espécies varia de 20.000 a 30.000/ μ L ou 10 a 15 trombócitos para cada 1000 eritrócitos. Agrupamentos de trombócitos são bastante comuns dificultando a contagem.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 7: testes de hemostasia

Tempo de sangramento da mucosa oral (TSMO) – tempo de sangria

Como já referido, é uma prova de função plaquetária e só tem valor diagnóstico quando o número de plaquetas estiver acima de 75.000 plaquetas/ μ L. O procedimento consiste em um corte de 0,5 cm na mucosa oral onde se observa o tempo decorrido até a formação do primeiro coágulo. O tempo normal varia de 1,7 a 4,2 minutos. Existem outras técnicas para verificar o tempo de sangramento, como o corte da parte viva de uma unha (no cão o sangramento deve cessar em 5 minutos e no gato em 3 minutos), plano nasal e gengiva.

Tempo de coagulação de Lee White – tempo de coagulação

O tempo de coagulação de Lee White avalia qualitativamente a hemostasia secundária, ou seja o sistema da cascata de coagulação. Para tanto, deve-se realizar a colheita de sangue sem anticoagulante (se possível 3mL), e neste momento disparar o cronômetro. Colocar 1mL de sangue em cada um de três tubos, e levá-los ao Banho Maria a 37 °C. A cada 30 segundos, verificar a coagulação completa do primeiro tubo, por inversão parcial do tubo. Após ocorrer a coagulação do primeiro tubo, fazer o mesmo no segundo tubo. Em seguida, realizar procedimento semelhante no último tubo; o tempo deste último tubo é o tempo de coagulação. O uso de três tubos consecutivos torna o tempo de coagulação mais próximo da realidade, visto que o movimento dos tubos para visualizar a coagulação auxilia na antecipação da coagulação do referido tubo.

Contagem de plaquetas

Contagem na câmara de Neubauer

- Tomar o frasco com sangue mais anticoagulante e homogeneizar;
- Com a pipeta de Thoma para glóbulos vermelhos, aspirar o sangue até a marca 1;
- Limpar o sangue da parte externa da pipeta com gaze;
- Diluir em seguida com solução de oxalato de amônio a 1% (líquido de Brecher) até a marca 101;
- Agitar por aproximadamente 5 minutos;
- Desprezar as primeiras gotas e encher a câmara de Neubauer por capilaridade;
- Deixar a câmara em repouso por 20 minutos;
- Contar as plaquetas dos 5 quadrados pequenos centrais de cada lado da câmara totalizando 10 quadrados (figura 7.2) e multiplicar por 2500.

Contagem estimativa no esfregaço sanguíneo

- Na objetiva de 100x do microscópio;
- Contar no mínimo 10 campos e fazer uma média;
- 10 a 20 plaquetas / campo = normal;
- 4 a 10 plaquetas / campo = trombocitopenia;
- < que 4 plaquetas / campo = severa trombocitopenia;
- 1 plaqueta = 15.000/ μ L.

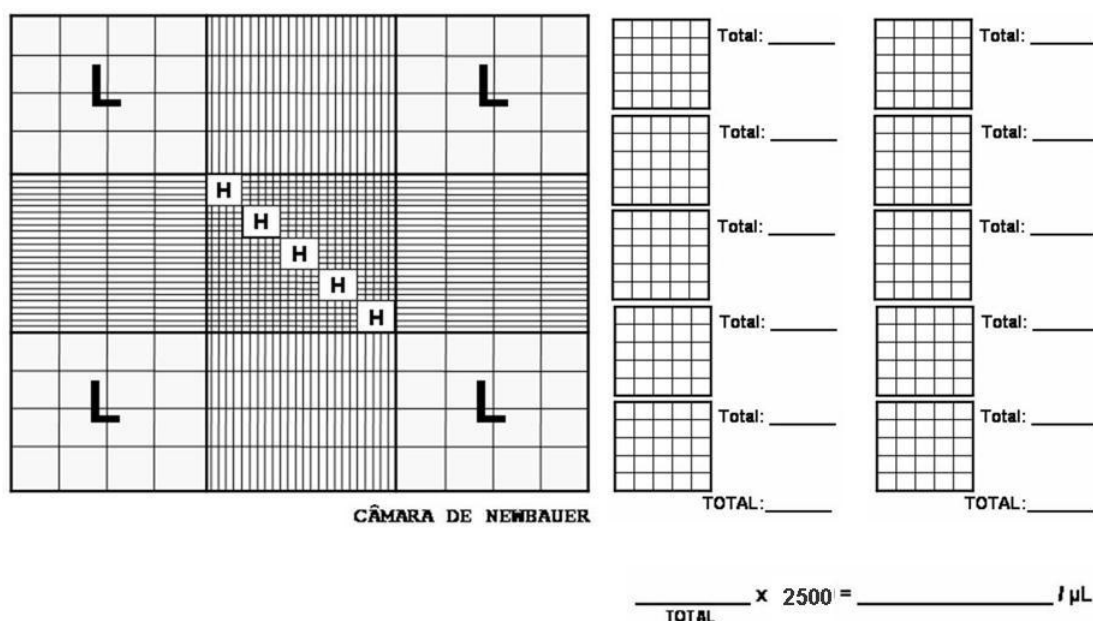


FIGURA 7.2. - Esquema da câmara de Neubauer – Contagem de plaquetas. Utilize a área central para contar as plaquetas na sua aula prática, escrevendo os respectivos números das contagens parciais nos respectivos quadrados.

Compare os valores encontrados na câmara de Neubauer com a contagem estimativa na lâmina. Observe para a presença de macroplaquetas e agregados plaquetários. Os agregados plaquetários inferem contagens diminuídas das plaquetas, caso presentes, uma nova colheita deve ser efetuada.

Diluição em tubo de ensaio (macrodiluição)

- Em um tubo de ensaio colocar 2mL da solução diluente;
- Acrescentar 20 µL de sangue homogeneizado;
- Homogeneizar a solução final por inversão do tubo;
- Preencher a câmara de Neubauer com o auxílio da pipeta ou de um tubo capilar;
- Contar as plaquetas dos 5 quadrados pequenos centrais de cada lado da câmara totalizando 10 quadrados e multiplicar por 2525.

Cálculo do fator

Cálculo da Câmara de Neubauer para contagem de plaquetas

Área central: 1mm ²	Volume da área central: 1/10mm ³
Profundidade: 1/10mm	Volume de cada quadrado médio central: 1/250mm ³
Diluição da pipeta: 1/100	Números de quadrados médios centrais contados: 10
Portanto: $\frac{10}{252,5} \times \frac{1}{100} = \frac{10}{25250} = \frac{1}{2525}$	Ou seja, o fator é x 2525

Observação: 1µl = 1mm³

7. 9. Atividade extra: coagulograma

Colheita da amostra para coagulograma

O sucesso dos exames de coagulação depende de uma colheita cuidadosa e anticoagulante correto e na proporção exata. Deve-se evitar garroteamento prolongado e sucessivas punções. Essas práticas contaminam a amostra com substâncias teciduais e podem alterar os exames com a formação de coágulos.

O sangue deve ser fresco, pois os fatores de coagulação possuem vidas médias curtas e o material de colheita deve ser plástico e os tubos siliconados. O vidro pode agir como fator de contato e ativa o sistema intrínseco da coagulação.

Para contagem estimativa na lâmina utiliza-se tubos com EDTA (tampa roxa), para os tempos de coagulação (TTPa e TP) utiliza-se tubos com citrato de sódio (tampa azul) e para o tempo de coagulação ativado, amostra sem anticoagulante.

Anticoagulante: Citrato de sódio

Modo de ação: quelante de cálcio, com a formação de sais insolúveis.

Uso: É o anticoagulante de escolha para provas de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada) por ser um quelante fraco onde o processo é facilmente revertido sendo possível mensurar os tempos de coagulação a partir da adição de cálcio. A proporção indicada para os testes é de 1 parte de anticoagulante para 9 de sangue. A amostra deve ser centrifugada e separada rapidamente e o plasma é utilizado.

Tempo de coagulação ativada

- Coletar amostra de sangue venoso sem anticoagulante;
- Adicionar imediatamente 2mL num tubo pré aquecido a 37°C contendo *diatomaceous earth* (ativador de contato);
- Disparar o cronômetro e colocar o tubo em banho-maria e observar a cada 5 a 10 segundos até a formação do coágulo;
- Ao formar o coágulo, parar o cronômetro e observar o tempo decorrido.

MÓDULO 2: BIOQUÍMICA CLÍNICA

PARTE 8: FUNÇÃO RENAL

8. 1. Funções dos rins

O rim dos mamíferos é um órgão de grande importância, encarregado de uma série de responsabilidades relacionadas à manutenção da homeostasia corporal e controle da maior parte dos constituintes dos líquidos orgânicos. Suas funções básicas são:

1. Filtrar o sangue e excretar os produtos terminais do metabolismo corporal que são inúteis ao organismo;
2. Recuperar o material filtrado necessário ao organismo como proteínas de baixo peso molecular, água e eletrólitos;
3. Manutenção do equilíbrio ácido-básico pela retenção ou eliminação de água ou eletrólitos;
4. Produção e liberação de hormônios que exercem um papel vital no controle da pressão sanguínea sistêmica (renina) e na produção de células sanguíneas vermelhas (eritropoietina).

8. 2. O néfron

A unidade funcional do rim é o néfron, o conhecimento da sua função é essencial para entender a função renal. O número de néfrons varia consideravelmente entre as espécies, de 190.000 néfrons/rim no gato à 4.000.000 néfrons/rim no bovino. Ele é composto por vários tipos celulares incumbidos de efetuar funções individuais, e preparados para responder, quando necessário, a uma série de sinais diretos e indiretos. O néfron é formado pelo glomérulo que é responsável pela filtração e pelo sistema tubular que é dividido em vários segmentos, onde o líquido filtrado é transformado em urina durante o seu trajeto até a pelve renal.

Os dois rins juntos recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco. O sangue entra no **glomérulo** pela arteríola aferente e sai pela arteríola eferente. O glomérulo é uma rede de até 50 capilares paralelos, ramificados e anastomosados, recobertos por células epiteliais e envoltos pela **cápsula de Bowman**. A pressão do sangue no glomérulo acarreta a filtração do líquido para o interior da cápsula de Bowman, e a partir daí, o líquido flui para o **túbulo proximal**, localizado no **córtex renal** juntamente com o glomérulo.

Do túbulo proximal, o líquido passa para a **Alça de Henle**, que mergulha na massa renal, com algumas das alças atingindo a parte inferior da medula renal. Cada alça é dividida em **ramo descendente e ascendente**. A porção descendente e a extremidade inferior da ascendente são extremamente finas, sendo chamadas **segmento delgado da alça de Henle**. A outra porção da alça ascendente possui mesma espessura das outras porções tubulares, e é denominada de **segmento espesso do ramo ascendente**. Após passar pela alça de henle o líquido atinge o **túbulo distal**, no córtex renal. Até 8 túbulos distais formam o **túbulo coletor**, que volta a mergulhar na medula e sua extremidade passa a constituir o **canal coletor**. Os canais coletores unem-se para formar **canais coletores maiores**. Estes irão se lançar na **pelve renal** pelas **papilas renais** que são projeções da medula que fazem protusões para dentro dos cálices renais (recessos da pelve renal).

A medida que o filtrado glomerular flui através dos túbulos, mais de 99% de sua água e quantidades variáveis de seus solutos são reabsorvidos normalmente para o sistema vascular, e pequenas quantidades de algumas substâncias são também secretadas para os túbulos. O restante da água tubular e das substâncias dissolvidas passa a constituir a urina (Figura 8.1).

Uma rede de capilares peritubulares responsabiliza-se pela irrigação sanguínea do rim. Esta rede recebe o sangue proveniente das arteríolas aferentes após passagem pelo glomérulo.

A função básica do néfron consiste em “depurar” o plasma sanguíneo de substâncias indesejáveis como os produtos finais do metabolismo proteico (uréia), muscular (creatinina), ácido úrico e uratos. Os íons sódio, potássio, cloro e hidrogênio que tendem a acumular-se em quantidades excessivas também são filtrados pelos néfrons. Os mecanismos básicos da função renal são filtração, reabsorção de substâncias necessárias para o metabolismo e secreção (tabela 8.1).

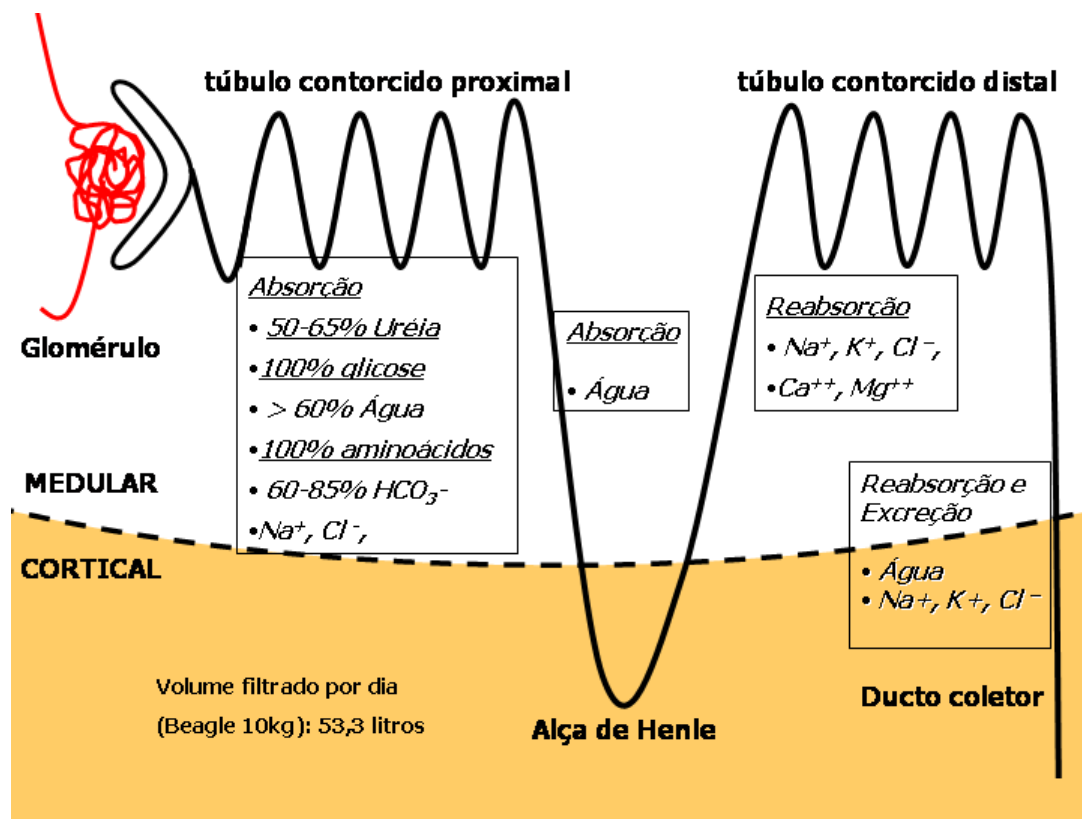


FIGURA 8.1. Esquema ilustrativo das atividades de absorção, reabsorção e excreção em cada parte da estrutura do néfron.

Tabela 8.1. Estruturas renais e suas funções de acordo com os segmentos celulares

ESTRUTURA	FUNÇÃO
Glomérulo	Filtração do sangue
Túbulo proximal	Reabsorção volumosa da água e solutos filtrados
Segmento delgado da alça de Henle	Manutenção da hipertonicidade medular pelo mecanismo de contra-corrente
Segmento espesso do ramo ascendente da alça de Henle	Reabsorção de NaCl , geração da hipertonicidade medular, diluição do fluido tubular e reabsorção de cátions divalentes
Túbulo contornado distal	Reabsorção de NaCl , diluição do fluido tubular e reabsorção de cátions divalentes
Sistema de ductos coletores	Controle final da taxa de excreção de eletrólitos, controle ácido-base e da água

8. 3. Filtração glomerular

O glomérulo constitui uma rede de capilares especificamente designado para reter componentes celulares e proteínas de alto e médio peso molecular no sistema vascular enquanto provém um fluido tubular que inicialmente possui uma composição eletrolítica e aquosa idêntica a do plasma. O fluido tubular inicial é chamado de **filtrado glomerular** e o seu processo de formação é conhecido como filtração glomerular. A **taxa de filtração glomerular** (TFG) é um parâmetro para avaliação da função renal.

O tufo glomerular é coberto por uma camada de células epiteliais denominada Cápsula de Bowman. A área entre o glomérulo e a cápsula de Bowman é denominada espaço de Bowman onde é o sítio da coleção de filtrado glomerular que vai desembocar no primeiro segmento tubular, o túbulo proximal.

A estrutura dos capilares glomerulares é importante para determinar a taxa e

seletividade da filtração glomerular. A permeabilidade desses capilares é de 100 a 500x maior comparado a um capilar normal. A presença de numerosas fenestras nas células endoteliais dos capilares glomerulares permite esta permeabilidade. Devido a isso, o volume filtrado produzido é muito grande porém com uma grande seletividade para tamanho molecular. A membrana glomerular é praticamente impermeável a todas as proteínas plasmáticas, porém é altamente permeável a outras substâncias dissolvidas no plasma normal. Essa permeabilidade seletiva é responsável pelas diferentes taxas de filtração do sangue. Em condições normais, os componentes celulares e proteínas plasmáticas de tamanho igual ou superior ao da albumina (aproximadamente 6nm), não atravessam a barreira de filtração enquanto a água e os solutos são livremente filtrados. Outro aspecto é a carga elétrica das proteínas plasmáticas. A parede glomerular possui glicoproteínas de carga elétrica negativa incorporadas a membrana basal que repelem negativamente proteínas plasmáticas de carga negativa reduzindo a passagem pela barreira de filtração. O formato e a deformidade também são aspectos relevantes na filtração.

O alto grau de seletividade da membrana está relacionado ao tamanho dos poros (permite a passagem de proteínas até 8nm) e a elevada negatividade dos poros glomerulares que repulsam moléculas protéicas.

A composição do filtrado glomerular é semelhante ao líquido intersticial (solutos e eletrólitos). Diariamente, o ritmo de filtração glomerular no cão é de 53,3 litros/dia. O filtrado difere do plasma por não possuir suficiente quantidade de proteínas.

8. 4. Reabsorção e secreção tubular

A reabsorção tubular é um processo seletivo que ocorre nos túbulos proximais, alça de Henle, túbulo distal e canal coletor. Nesse processo, 99% do filtrado glomerular é reabsorvido pelo epitélio onde a glicose e aminoácidos são totalmente reabsorvidos e K^+ e H^+ são eliminados.

O rim é o responsável pelo transporte ativo da glicose, aminoácidos, Ca^{2+} , K^+ , Cl^- , H_2CO_3 , P^+ e íons urato. A glicose e os aminoácidos são transportados da luz tubular através da borda em escova pelo processo co-transporte de sódio onde se fixam à proteína carreadora do sódio que penetra na membrana e desloca ambos os compostos. Dentro da célula há separação da proteína carreadora e essa desloca-se por difusão facilitada para os capilares peritubulares.

Os túbulos proximais são altamente permeáveis à água e o transporte ocorre de maneira passiva através do epitélio tubular. Quando os diferentes solutos são transportados para fora do túbulo e através do epitélio tubular, a concentração produz osmose de água na mesma direção em que foram transportados os solutos. Algumas porções do sistema tubular são muito mais permeáveis à água que outras e isso é importante no mecanismo de controle da concentração urinária.

Aproximadamente metade da uréia permanece no líquido tubular, aumentando a sua concentração. A diferença da concentração de uréia que se estabelece entre o líquido tubular e peritubular permite a difusão. Este mesmo efeito ocorre também para outros solutos tubulares que não são reabsorvidos ativamente, mas que são difusíveis através da membrana tubular. Uma grande proporção de uréia permanece nos túbulos e é perdida na urina habitualmente cerca de 50% de toda quantidade que penetra no filtrado glomerular. A permeabilidade da membrana tubular para reabsorção de creatinina, insulina (um grande polissacarídeo), manitol (um monossacarídeo) e sacarose é nula, o que significa que uma vez que essas substâncias foram filtradas para dentro do filtrado glomerular são na totalidade eliminadas pela urina.

O controle da permeabilidade do canal coletor à água é feito pelo ADH. Em situações onde há secreção excessiva desse hormônio, a água é reabsorvida para o interstício medular em grandes quantidades, reduzindo assim o volume de urina e concentrando a maioria dos solutos. A segunda característica importante do epitélio do canal coletor é sua capacidade de secretar H^+ , contra um gradiente muito alto desses íons; desempenhando um papel extremamente importante no controle do equilíbrio ácido-básico dos líquidos corporais.

8. 5. Fatores que afetam a filtração glomerular

Os rins possuem habilidade para manter a taxa de filtração glomerular (TFG) dentro dos padrões fisiológicos em um nível relativamente constante a despeito das mudanças de pressão sanguínea e do fluido sanguíneo renal. A TFG é controlada pela modulação da

pressão sanguínea sistêmica e volume intravascular, pelo controle intrínseco do fluxo sanguíneo renal, pressão capilar glomerular e o coeficiente de ultrafiltração (Cf). Esses efeitos são mediados primariamente por fatores humorais, sendo o mais importante o sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA). O controle intrínseco da perfusão capilar glomerular é mediado também por sistemas de controle da resistência do fluxo nas arteríolas aferentes e eferentes. Estes dois sistemas autoreguladores são, o reflexo miogênico e o feedback tubuloglomerular.

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um mecanismo importante no controle da TFG e fluxo sanguíneo renal (FSR). A renina é um hormônio produzido por células especializadas da parede da arteríola eferente, as células mesangiais granulares extraglomerulares. A liberação da renina é estimulada por uma diminuição da pressão de perfusão renal (figura 8.2).

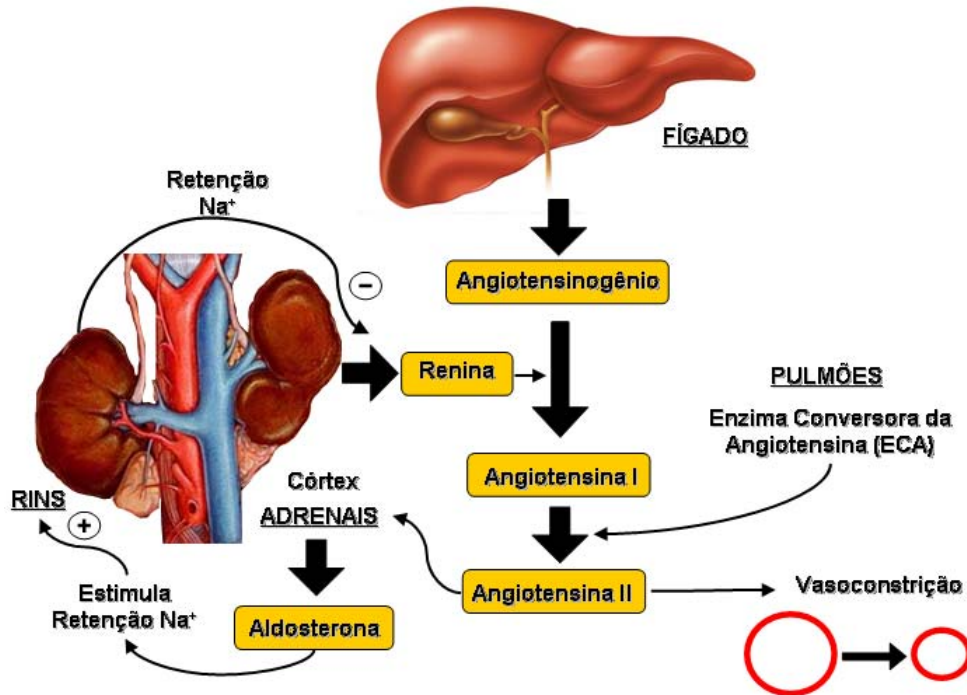


FIGURA 8.2. Esquema representativo do sistema renina-angiotensina-aldosterona no controle da TFG.

Níveis elevados de angiotensina II também estimulam a produção e liberação de prostaglandinas vasodilatadoras renais (PGE_2 e PGI_2) que são fatores moderadores do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A função deles é contrapor ao efeito vasoconstrictor da angiotensina II na vascularização intrarenal e auxiliar na manutenção da resistência renal vascular em níveis normais ou próximos do normal. Sem este efeito, a vasoconstrição generalizada resultaria numa redução da TFG e FSR, a despeito da elevação da pressão sanguínea.

8. 6. Urinálise

A. Colheita

A colheita da urina é de fundamental importância e varia de acordo com a espécie. A urina pode ser obtida das seguintes formas:

Micção natural

A amostra de urina pode ser obtida no momento da micção natural, por meio de recipiente direcionado oportunamente. Mais indicado para grandes animais, principalmente pela dificuldade de cateterização. A micção pode ser estimulada em bovinos e eqüinos por leve massagem perigenital. Em cães pode-se estimular a micção realizando um breve passeio. Deve-se desprezar a porção inicial da amostra de urina colhida por micção natural, pois poderá conter detritos celulares, leucócitos e exsudato provenientes da uretra, prepúcio e trato genital.

Cateterismo

A amostra de urina pode ser obtida por cateterismo vesical, utilizando-se sondas apropriadas para a espécie, sexo e tamanho do animal. Indicado quando há necessidade rápida de colheita, ou quando terapêutico, como em urolitíases ou cirurgias.

Deve-se tomar cuidado para evitar contaminação com substâncias que possam interferir na urinálise, a exemplo das substâncias lubrificantes; evitar a traumatização da uretra.

Cistocentese

Constitui a técnica de colheita de urina mais adequada para animais de pequeno porte pela facilidade, baixo custo e confiabilidade no resultado do exame. Especificamente indicada para obtenção de amostras destinadas à cultura bacteriana e antibiograma.

A cistocentese só é praticável quando a bexiga estiver com volume de urina suficiente, permitindo a punção sem riscos de injúrias aos órgãos abdominais. O paciente deve ser preparado com tricotomia e antissepsia local e o procedimento deve ser realizado com auxílio de uma seringa estéril de 10 ou 20mL e agulha hipodérmica 25x7/30x8. Para facilitar a identificação do órgão, pode-se fazer a punção com auxílio da ultrassonografia.

B. Acondicionamento

A urina deve ser colhida em recipiente limpo, podendo ser de vidro ou plástico e obrigatoriamente estéril se a amostra for submetida a isolamento bacteriano e antibiograma. Se a amostra de urina não for analisada imediatamente após a colheita, os frascos escuros são preferíveis pois a luz ambiental pode ocasionar a degradação de certos constituintes da urina, tais como bilirrubina e urobilinogênio, em menos de uma hora.

A primeira urina da manhã é preferível, pois provavelmente contém os elementos de significado diagnóstico, enquanto a ingestão de líquidos durante o dia dilui a urina.

Sempre que possível, a amostra deve ser processada imediatamente após a colheita, pois após 2 horas já ocorrem alterações dos componentes iniciais. Podem ser verificadas alterações químicas e físicas em um breve espaço de tempo quando a amostra for deixada à temperatura ambiente. Nesse caso, as bactérias, quando presentes, proliferam rapidamente e se forem redutoras de uréia irão alcalinizar a amostra. A urina alcalina, por sua vez, tende a dissolver os cilindros e ocasionar a cristalização dos solutos alterando o aspecto macro e microscópico da urina.

Uma boa maneira de conservar a urina é mantê-la em temperatura de refrigeração (1 a 4°C) por até 12 horas pós colheita, tomando-se o cuidado de deixar a urina retomar a temperatura ambiente previamente ao exame. Temperaturas inferiores à de refrigeração podem elevar a densidade específica da amostra e podem degradar os constituintes celulares.

Quando não for possível a realização imediata da urinálise, ou quando não houver condição de acondicioná-la adequadamente, pode-se utilizar substâncias conservantes de ação antibacteriana, tais como o tolueno, o timol e a formalina. A formalina deve ser utilizada na diluição de uma gota a 40% para cada 30mL de urina. Este modo de conservação torna inviáveis as provas químicas da urina.

O frasco contendo a urina deve ser identificado, e enviado junto com a requisição devidamente preenchida.

Exame n° : _____

Proprietário :			RG :		Data: / /
Espécie :	Raça :	Sexo :	Idade :	Horário colheita :	
Diagnóstico provisório:			Sob Tratamento? Qual?		
História Clínica resumida :					

Colheita: () Cistocentese () Cateterismo () Micção natural

C. Exame da urina

O exame de urina deve ser realizado e interpretado segundo estas informações:

Exame Físico

O exame físico da urina é de simples realização, e pode fornecer informações importantes.

Volume (mL)

A quantidade de urina excretada por dia por animais normais depende de alguns fatores, a saber: dieta, ingestão de líquidos, temperatura ambiente e umidade relativa do ar, atividade, tamanho e peso do animal. Como em animais a obtenção de urina padrão de 24 horas é muito difícil, o volume é na verdade a quantidade de urina recebida pelo laboratório. O volume mínimo para a realização adequada do exame é de 10mL.

Em condições de saúde, o volume urinário é inversamente proporcional à densidade urinária específica; portanto, o aumento da quantidade de urina excretada, ou poliúria, está associada à densidade específica baixa; e a oligúria, diminuição do volume urinário está associada à densidade específica elevada (quadro 8.1).

Cor

A cor da urina deve sempre ser considerada associada à densidade específica e volume urinário. A intensidade da coloração urinária depende da concentração de urocromos, e varia inversamente com o volume urinário. A coloração normal da urina pode variar do amarelo-palha ao âmbar claro, e em eqüinos até a tonalidade amarronzada. Entre as cores mais importantes:

- Pálida ou amarelo-clara: geralmente é uma urina diluída com densidade baixa e associada à poliúria. Pode ser observada na doença renal terminal, ingestão excessiva de líquidos, Diabetes insipidus, hiperadrenocorticism, piometra, fase poliúrica da nefrose tóxica.
- Amarelo-escura ao âmbar: urina concentrada com densidade elevada e associada à oligúria. Pode ser associada à febre, desidratação, diminuição de ingestão hídrica, nefrite aguda (fase oligúrica), nefrose tóxica.
- Alaranjado-âmbar a amarelo-esverdeada: forma uma espuma alaranjada ou esverdeada quando agitada e se relaciona com a presença de bilirrubina.
- Avermelhada: pode indicar presença de hemoglobina e/ou hemácias. Após a centrifugação ou sedimentação a hematúria simples apresenta-se com sobrenadante límpido.
- Marron: pode indicar presença de hemoglobina, mioglobina, ou urina normal de eqüinos após certo tempo (oxidação por pirocatequina).
- Azul-esverdeada: pode ser devido ao azul de metileno, que comumente é encontrada na composição de antissépticos urinários.

A urina normal quando agitada forma uma certa quantidade de espuma branca, típica. Na proteinúria, a quantidade de espuma é abundante e demora a desaparecer. Na bilirrubinúria a espuma frequentemente apresenta-se esverdeada ou acastanhada; na hemoglobinúria, a espuma apresenta-se avermelhada.

Odor

A urina *Sui generis* ou normal dos herbívoros tem um odor aromático, mais intenso nos ruminantes, enquanto que nos carnívoros é picante e alíáceo. O odor da urina dos machos de certas espécies é pronunciado, e às vezes até repugnante (suíno, felino e caprino). O odor normal da urina é conferido pela presença de ácidos orgânicos voláteis. Entre os odores mais importantes:

- Pútrido: indica necrose tecidual de vias urinárias.
- Adocicado: presença de corpos cetônicos; associado a Diabetes melito e acetonemia da vaca leiteira.
- Amoniacal: observado na urina de animais com infecção bacteriana.

Aspecto

A maioria das espécies domésticas apresenta normalmente urina transparente ou límpida; a única exceção é o eqüino, cuja urina é turva devido à presença de cristais de carbonato de cálcio e muco. Apresenta-se turva quando alterada e pode representar uma grande quantidade de leucócitos, eritrócitos, células epiteliais de descamação, muco e bactérias do trato urinário. A contaminação da urina por exsudato de trato genital também pode ser a causa da turvação da urina colhida sem cateterização. A melhor forma de detectar a causa da turvação da urina é através do exame do sedimento.

QUADRO 8.1. – Condições não patológicas e patológicas de alterações da densidade

	Não patológico (transitório)	Patológico
POLIÚRIA (↓ densidade)	ingestão excessiva de água Terapia diurética fluidoterapia Adm. de ACTH / corticóides	Diabetes melito Diabetes insípido Insuficiência renal aguda e crônica Hipoplasia renal Pielonefrite Piometra Hepatopatias Hiperadrenocorticismo
OLIGÚRIA (↑ densidade)	Redução de ingestão de água Temperatura elevada Hiperventilação Alta atividade física	Desidratação por perda Febre
	Não patológico (transitório)	Patológico
POLIÚRIA (↓ densidade)	ingestão excessiva de água Terapia diurética fluidoterapia Adm. de ACTH / corticóides	Diabetes melito Diabetes insípido Insuficiência renal aguda e crônica Hipoplasia renal Pielonefrite Piometra Hepatopatias Hiperadrenocorticismo
OLIGÚRIA (↑ densidade)	Redução de ingestão de água Temperatura elevada Hiperventilação Alta atividade física	Desidratação por perda Febre

Sedimento

Avaliado após a centrifugação de no mínimo 5mL de amostra e em animais normais apresenta-se discreto. Quando abundante pode ser devido à alta concentração urinária de cristais, leucócitos ou outros componentes. A cor do sobrenadante é também importante, em especial para diferenciar hemoglobinúria (avermelhado) de hematúria (límpido).

Consistência

Normalmente líquida, e levemente viscosa em eqüinos. Altera-se na leucocitúria ou piúria, cristalúria, etc.

Densidade

Representa a concentração dos sólidos em solução urinária e retrata o grau de reabsorção tubular ou da concentração renal. Preferencialmente é obtida por refratometria uma vez que as tiras urinárias não são eficazes para determinar a densidade em caninos. Para determinação, prefere-se o uso do sobrenadante após a centrifugação.

A densidade urinária é influenciada por fatores como peso corporal, dieta, exercício, idade, condições climáticas e metabolismo.

Os valores normais de densidade específica urinária variam entre limites muito amplos. De um modo geral, pode-se considerar uma variação entre 1015 e 1045, sendo que uma única determinação fora destes limites não significa, obrigatoriamente, alteração renal. Portanto, deve ser interpretada junto ao grau de hidratação e ingestão hídrica recente do animal.

Quanto à classificação, a urina pode ser denominada de hipostenúrica (menor ou igual a 1007), isostenúrica (entre 1008 a 1012) e de elevada densidade urinária (acima de 1030 para cães e 1035 para gatos). Em algumas doenças renais, observa-se há perda da capacidade renal de concentrar a urina, reduzindo a densidade. As causas mais freqüentes de alterações na densidade específica urinária estão representadas no quadro 8.1.

Exame Químico

O exame químico da urina é realizado com o auxílio de fitas reagentes de química seca, obtidas comercialmente para laboratórios humanos. É importante lembrar que uma baixa densidade urinária significa diluição dos constituintes químicos urinários.

pH

A concentração hidrogeniônica da urina é particularmente influenciada pela dieta. Animais mantidos com dieta predominantemente vegetal apresentam urina alcalina, devido à presença de bicarbonato de cálcio solúvel; por outro lado, os animais cuja alimentação é rica em proteínas e cereais apresentam urina ácida, devido à presença de fosfatos ácidos de sódio e cálcio.

O pH urinário é, portanto ácido nos carnívoros (5,5 a 7,0) e alcalino (7,5 a 8,5) nos herbívoros. Animais novos, em fase de amamentação, apresentam pH urinário ácido, mesmo que o adulto da mesma espécie tenha predominantemente pH urinário alcalino. As alterações do pH urinário geralmente indicam mais uma alteração sistêmica do que um processo localizado em nível de sistema urinário.

São causas de urina alcalina: atraso no processamento e má conservação da amostra, cistite associada a bactérias produtoras de urease (*Staphylococcus* sp. e *Proteus* sp.), administração de alcalinizantes (bicarbonato de sódio, lactato de sódio, citrato de sódio), retenção urinária vesical e alcalose metabólica ou respiratória.

No caso de urina ácida, dentre as causas podem ser mencionadas: dieta hiperproteica, administração de acidificantes (cloreto de amônio, cloreto de cálcio, DL-metionina, fosfato ácido de sódio), catabolismo de proteínas orgânicas (febre, jejum, Diabetes melito), acidose metabólica ou respiratória, principalmente uremia e Diabetes melito.

Proteínas (mg/dl)

A proteinúria deve ser sempre interpretada em associação com a densidade específica e outros dados clínicos e laboratoriais. Em condições normais a quantidade de proteína na urina é muito pequena e geralmente as tiras urinárias não detectam.

As tiras de urinálise são sensíveis para albumina e não para proteínas Bence-Jones. Geralmente o pH urinário elevado pode interferir o resultado desse método e nesse caso (pH urinário acima de 7,5) recomenda-se os testes de precipitação ácida (ácido sulfosalicílico) para detecção semiquantitativa de proteína na urina. Essa técnica detecta albumina e demais tipos de proteína. O grau de proteinúria não é necessariamente proporcional à severidade da doença principalmente na proteinúria renal. As causas de proteinúria são relacionadas no quadro 8.2.

Glicose (mg/dl)

A urina normal é isenta de glicose, pois a glicose filtrada pelo glomérulo é totalmente reabsorvida pelos túbulos contorcidos proximais. A glicosúria ocorre sempre que a glicemia exceder a capacidade de reabsorção renal (tabela 8.2)

A glicosúria pode estar associada a hiperglicemia na Diabetes melito, no Hiperadrenocorticism, no tratamento parenteral com glicose e frutose, na pancreatite necrótica aguda, na ingestão excessiva de açúcares e administração parenteral de adrenalina. Nos casos em que se observa glicosúria não associada a hiperglicemia pode-se relacionar a nefropatias congênitas ou hereditárias e a doenças renais com comprometimento da porção tubular proximal.

A glicosúria falso-positiva pode ocorrer por reação química cruzada após administração de certos antibióticos, substâncias redutoras de açúcar e outros medicamentos.

TABELA 8.2. Valores de glicemia a partir dos quais observa-se glicosúria (adaptado de Latimer et al., 2003).

Espécie	Glicemia (mg/dl)
Bovinos	> 100
Caninos	> 180
Felinos	> 280
Aves	> 600

QUADRO 8.2. Causas de proteinúria.

PROTEINÚRIA FISIOLÓGICA		
<ul style="list-style-type: none"> - Exercício muscular excessivo - Convulsões - Ingestão excessiva de proteínas - Função renal alterada nos primeiros dias de vida 		
PROTEINÚRIA PATOLÓGICA		
Origem	Significado	Patologias
Pré-renal	- Doença primária não renal.	Hemoglobinúria Mioglobinúria γ - Globulinúria
Renal	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento da permeabilidade capilar - Doença tubular com perda funcional - Sangue ou exsudato inflamatório renal 	Nefrose / Cistos renais Glomerulonefite Nefrite / Pielonefrite Neoplasias / Hipoplasia
Pós-renal	<ul style="list-style-type: none"> - Infecções do trato urinário inferior - Hematúria pós-renal - Obstrução por cálculos (urolitíase) 	Pielite / Ureterite Cistite / Uretrite Vaginite / Postite

Acetona (corpos cetônicos)

Os corpos cetônicos (ácido aceto-acético, β -hidrobutírico e acetona) são produtos do metabolismo lipídico e normalmente estão ausentes na urina. A elevação destas substâncias no sangue é denominada cetose ou acetonemia. As tiras usadas na rotina não são capazes de medir o ácido β -hidrobutírico. Para esse metabólito pode-se usar tiras específicas para determinação no leite, urina e líquido ruminal.

As causas de cetonúria variam conforme a patogenia e as particularidades do metabolismo das diferentes espécies. Geralmente, a cetonúria está relacionada a acidose, ao jejum prolongado, a hepatopatias, a febre em animais jovens e a Diabetes melito em pequenos animais. Em vacas leiteiras, ocorre na cetose por balanço energético negativo e em ovelhas prenhes, cetose associada a hipoglicemia.

Bilirrubina

A bilirrubinúria deve sempre ser interpretada em associação a densidade específica urinária. A urina obtida de cães saudáveis normalmente contém alguma quantidade de bilirrubina, principalmente quando a amostra possui elevada densidade específica. O limiar de excreção de bilirrubina no cão é baixo em condições normais e por isso, normalmente, não se observa.

A bilirrubinúria está relacionada a hepatopatias (hepatite infecciosa canina, Leptospirose e neoplasias) e a obstrução das vias biliares com colestase intra e extra-hepática.

Urobilinogênio

O urobilinogênio é um cromógeno formado no intestino por ação bacteriana redutora de bilirrubina. Uma parte do urobilinogênio é excretada através das fezes, mas outra é absorvida pela circulação porta, retornando ao fígado e sendo eliminada pela bile. Pequena quantidade de urobilinogênio atinge os rins através da circulação, sendo excretado pela urina.

O "kit" comercial de fitas reagentes é geralmente insensível ao urobilinogênio. Para melhor interpretação deve-se realizar a prova de Ehrlich. A urina de cães e gatos geralmente possui reação positiva de urobilinogênio até diluição de 1:32.

A ausência ou diminuição do urobilinogênio urinário está relacionado a distúrbios intestinais de reabsorção (diarréia) enquanto que o aumento pode ser associado a hepatite por incapacidade funcional de remoção do urobilinogênio da circulação, cirrose hepática e icterícia hemolítica.

Sangue oculto

Normal quando ausente. Os testes laboratoriais de rotina não diferenciam hematúria de hemoglobinúria e para isso, deve-se centrifugar a amostra e observar sedimento e sobrenadante. Na hematúria verdadeira o sobrenadante fica límpido enquanto na

hemoglobinúria, fica avermelhado.

As **causas de hemoglobinúria** estão relacionadas a certas doenças infecciosas (Leptospirose, Piroplasmose e determinadas estreptococoses), fotossensibilização e plantas tóxicas, intoxicação por agentes químicos (Cobre e Mercúrio), transfusões sanguíneas incompatíveis, Anemia Infecciosa Equina e doença hemolítica do recém-nascido.

A hemoglobinúria deve ser diferenciada da mioglobinúria. Para isto realizar o seguinte:

1. Identificar as amostras positivas para mioglobina - hemoglobina pela tira reagente.
 2. Saturar 5mL de urina com Sulfato de Amônio ($\pm 2,8g$).
 3. Agitar fortemente e centrifugar a 2000 rpm por 10 minutos.
 4. Passar a tira reagente novamente no sobrenadante.
- POSITIVO – Mioglobina NEGATIVO – Hemoglobina

São causas de mioglobinúria: mioglobinúria paralítica dos eqüinos e acidente botrópico (cascavel).

Exame do Sedimento

O exame do sedimento deve ser padronizado e para um exame representativo, deve-se utilizar 5 a 10mL de urina fresca e centrifugá-la a 1500rpm por 5 a 10 minutos. O sedimento é obtido desprezando-se o sobrenadante e ressuspensando-o em aproximadamente 1mL. Uma gota é colocada sobre uma lâmina e coberta por uma lamínula.

A leitura deve ser realizada em microscópio óptico em objetiva de 40x e para aumentar o contraste, deve-se abaixar o condensador. No entanto, uma observação em menor aumento (100 ou 200x) deve ser realizada previamente à leitura, para verificar-se homogeneidade do sedimento e macroestruturas como coágulos e pus. Observar a densidade urinária, pois pode haver diluição do sedimento.

Células epiteliais de descamação

Normal quando ausente ou discreta presença. Quando em quantidade elevada (>5células/campo) podem indicar lesão local ou difusa. As células podem ser diferenciadas quanto sua morfologia como do epitélio renal, pelve, vesical, uretral e vaginal (tabela 8.3). Em urinas de retenção ou quando há demora de exame, as células podem apresentar-se degeneradas.

TABELA 8.3. Causas prováveis do elevada quantidade de células epiteliais na urina

CAUSAS DA PRESENÇA DE CÉLULAS EPITELIAIS NA URINA	
Renais	degeneração tubular aguda, intoxicação renal, isquemia renal e processo inflamatório
Pelve	pielite, pielonefrite
Vesicais	cistite, cateterização agressiva
Uretrais	uretrite, cateterização agressiva
Neoplásicas	diagnóstico por morfologia citológica do sedimento

Hemácias

As hemácias são menores que os leucócitos e normal quando na quantidade de 1 a 2/campo de observação no microscópio e quando superior a 5/campo pode ser considerado hematúria.

A hematúria, que pode ser macro ou microscópica está relacionada a Inflamações do trato urinário (pielonefrite, ureterite, cistite, pielite, prostatite), traumas (cateterização, cistocentese, neoplasias renais vesicais ou prostáticas), congestão passiva renal, infarto renal, certos parasitas (*Dioctophima renale*, *Sthefanurus sp*, Dirofilariose), intoxicação (cobre e mercúrio), distúrbios hemostáticos, estro e pós-parto.

Leucócitos

Apresentam-se como células granulares maiores que as hemácias, porém menores que as células epiteliais. Normal quando 1 a 2/campo e quando maior que 5/campo é considerado leucocitúria ou piúria. Em pH alcalino, os leucócitos tendem a apresentar-se sob a forma de grumos.

As causas de leucocitúria podem ser inflamações renais (nefrite, glomerulonefrite, pielonefrite), inflamações do trato urinário inferior (uretrite, cistite) e inflamações do trato genital

(vaginite, prostatite e metrite).

Cilindros

São constituídos primariamente de mucoproteína e proteína que aderem-se ou não a outras estruturas; normal quando ausentes. Representam moldes dos túbulos onde são formados, como nos ductos coletores, túbulos contorcidos e alça de Henle.

A formação dos cilindros dá-se na porção renal tubular, onde a urina atinge concentração máxima e acidez, o que favorece a precipitação de proteínas e mucoproteínas. Qualquer lesão tubular presente no momento da formação dos cilindros pode refletir na composição dos mesmos. Deste modo os cilindros são classificados conforme o material que contém (quadro 8.3). **IMPORTANTE:** os cilindros não se formam em baixas densidades ou em pH alcalino.

Bactérias

Normal quando quantidade discreta e deve ser interpretado considerando o método de colheita. Normalmente a urina é estéril até atingir o pólo distal da bexiga e observa-se em cães que há uma população bacteriana normal maior na extremidade distal. Cuidado com falsa bacteriúria por tempo prolongado de exposição da amostra de urina previamente ao exame.

Uma grande quantidade de bactérias em amostra de urina fresca sugere infecção bacteriana em algum ponto do trato urinário, especialmente quando associada a outros sinais de inflamação como piúria, hematúria e proteinúria.

QUADRO 8.3. Tipos de cilindros urinários, sua composição e interpretação.

CILINDROS URINÁRIOS		
Tipo	Composição	Interpretação
□ hialino	Mucoproteínas e proteínas	Geralmente associados à proteinúria, Processos transitórios como febre e congestão, Doença renal.
□ hemático	Muco + hemácias	Hemorragia glomerular e tubular, Glomerulonefrite aguda, Nefropatia crônica em fase evolutiva.
□ leucocitário	Muco + leucócitos	Associados à inflamação renal, Pielonefrites e abscessos renais.
□ epiteliais	Muco + restos celulares	Semelhante à presença de células isoladas, Inflamações renais.
□ granuloso	Muco + outras estruturas	Degeneração tubular, Necrose de células tubulares
□ céreo	Cilindros angulares	Devido à grande permanência tubular, Fase final da degeneração tubular, Lesão tubular crônica

Cristais

São produtos finais da alimentação do animal e dependem para sua formação do pH urinário. A grande quantidade pode indicar urolitíase, embora possa haver cálculos sem cristalúria e vice-versa. Exemplos de cristalúria em pH alcalino e ácido no quadro 8.4.

QUADRO 8.4. Cristais encontrados em diferentes pH.

CRISTALÚRIA	
pH ALCALINO	pH ÁCIDO
Fosfato triplo	Urato amorfo
Fosfato amorfo	Oxalato de cálcio
Carbonato de cálcio	Ácido hipúrico
Urato de amônio	Cistina (raro)

Outros achados:

Epermatozóides: Normal no cão. Em outras espécies, como no bovino, pode indicar distúrbio reprodutivo.

Muco: São filamentos mucóides, normal quando em quantidade discreta. Aumentam em processos inflamatórios.

Fungos ou leveduras: contaminantes ou infecção fúngica

Ovos e parasitas: *Stephanurus sp* (suínos), *Diectophyme renale* (cães), *Capillaria spp* (cães e gatos) e *Dirofilaria immitis* (cães).

Lipídios: sem interpretação clínica (pode ser artefato da sondagem).

8. 7. Provas de função renal

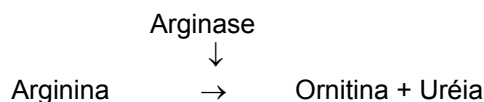
Os testes bioquímicos de função renal são realizados para o diagnóstico de doença renal e para a monitorização do tratamento. Os testes devem ser realizados após um criterioso exame clínico e analisado juntamente com a urinálise. A amostra deve ser obtida sem anticoagulante, porém, eventualmente algumas técnicas permitem o uso de plasma heparinizado ou com EDTA. Alguns cuidados devem ser tomados na colheita de sangue, como garroteamento prolongado, hemólise e obtenção de amostra suficiente para realização dos testes.

Provas bioquímicas

As principais provas bioquímicas de função renal incluem a determinação da uréia e creatinina séricas/plasmáticas. Outras provas como sódio, potássio e fósforo séricos podem ser úteis no diagnóstico de doenças renais uma vez que são elementos excretados normalmente pela urina.

Uréia (BUN)

A uréia é produzida no fígado através da arginase e é o principal produto final do catabolismo protéico.



Por ser de baixo peso molecular, a uréia difunde-se igualmente pelos fluídos orgânicos. A uréia é excretada através do filtrado glomerular, em concentração igual à do sangue. Parte, em torno de 25 a 40%, é reabsorvida através dos túbulos, na dependência do fluxo urinário e 60% é eliminada através da urina. Quando há maior velocidade de fluxo há menor absorção de uréia e vice-versa. Em situações em que ocorre diminuição da filtração glomerular, observa-se maior retenção da uréia. Isso ocasiona um aumento da concentração sangüínea, mas somente será considerada azotemia renal primária quando 75% dos nefrons de ambos os rins estão afunacionais.

A concentração de uréia é afetada por fatores extra-renais como ingesta protéica elevada e jejum prolongado. Devido a essas interferências, a uréia não é um bom indicador do funcionamento renal quando analisada unicamente. Para se analisar a função renal, esse parâmetro deve ser interpretado juntamente aos níveis de creatinina, proteína e densidade urinárias. Os fatores que interferem nos níveis de uréia estão relacionados no quadro 8.5.

QUADRO 8.5. Causas de elevação dos níveis de uréia sangüínea.

Extra-renais	Aumento da síntese	Ingestão proteica elevada Hemorragia gastrointestinal
	Catabolismo tecidual	Febre e trauma tecidual generalizado Aplicação de glicocorticóide e tetraciclina
Pré-renais	<ul style="list-style-type: none"> ▫ Diminuição do fluxo renal; ▫ Diminuição da pressão glomerular; ▫ Hipotensão e choque; ▫ Insuficiência cardíaca; ▫ Aumento de pressão osmótica; ▫ Desidratação. 	
Renais	▫ Quando $\frac{3}{4}$ ou mais dos nefrons estão afunacionais	
Pós-renais	▫ Ruptura e/ou obstrução do trato urinário	

A redução dos níveis de uréia pode ocorrer pela diminuição da produção como em casos de Insuficiência hepática, na cirrose, no Shunt porto-sistêmico e em casos de redução da proteína dietética e hipoproteïnemia.

Creatinina

A creatinina é formada através do metabolismo da creatina e fosfocreatina muscular. O nível sanguíneo não é afetado pela dieta, idade e sexo embora elevado metabolismo muscular possa aumentar os níveis de creatinina na circulação. A creatinina é totalmente excretada pelos glomérulos, não havendo a reabsorção tubular. Devido a isso, pode ser usada como índice de filtração glomerular. Além disso, por ser facilmente eliminada (4 horas), a elevação na circulação ocorre mais tardiamente nos estados de insuficiência renal, quando comparado com a uréia sanguínea (1,5 horas).

A creatinina pode estar elevada no soro devido a fatores pré-renais como diminuição do fluxo sanguíneo, renais como a diminuição da filtração glomerular e pós-renais como a ruptura e/ou obstrução do trato urinário.

Eletrólitos

Sódio

Normalmente o sódio é filtrado e reabsorvido, dependendo da quantidade na dieta. Na nefropatia crônica generalizada há perda de sódio, pois este acompanha a água na depleção hídrica para manter a isotonicidade. A redução de sódio é a hiponatremia.

Potássio

O potássio fisiologicamente é filtrado nos glomérulos, reabsorvido nos túbulos contorcidos proximais e excretado pelos túbulos distais. A concentração sérica de potássio varia com a dieta. Na nefropatia com oligúria ou anúria há perda de função excretora renal e retenção de potássio, levando à hipercalemia.

Cálcio

Na nefropatia aguda não há alteração nos níveis séricos de cálcio. Na nefropatia crônica generalizada há perda da capacidade de reabsorção, com conseqüente hipocalcemia. Quando perdura, esta hipocalcemia estimula a paratireóide a mobilizar cálcio ósseo para manter a homeostase, levando ao hiperparatireoidismo secundário renal.

Fósforo

Na nefropatia crônica progressiva e na doença renal generalizada há redução na velocidade da filtração e perda na capacidade de excreção de fósforo, levando à hiperfosfatemia em cães e gatos. Em grandes animais este aumento não é uma constante.

Quando perdura a hiperfosfatemia há um estímulo à paratireóide, no sentido de mobilizar cálcio ósseo para manter a homeostase sanguínea. Este processo leva ao hiperparatireoidismo secundário renal.

8. 8. Uremias

Realizados os exames de função renal, outro passo importante é a interpretação destes resultados. Na presença de concentrações séricas ou plasmáticas aumentadas de uréia e creatinina, mas ainda sem os sinais clínicos característicos deste acúmulo, tem-se a chamada **azotemia**.

Quando há evolução do processo surgem os sinais clínicos característicos, tais como hálito urêmico, úlceras na cavidade bucal e língua, diarreia profusa até sanguinolenta e vômitos. Nesta fase a concentração de uréia e creatinina é maior no sangue que na urina. A associação destes sinais clínicos com o aumento sanguíneo de uréia e creatinina são denominadas de **uremia**.

Devido a diversidade da função renal, as interpretações dos testes determinadores da função renal devem ser sempre realizadas em conjunto considerando todas as alterações (quadro 8.6).

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 8: colheita e exame da urina

Coletar no mínimo 10mL de amostra. Identificar as amostras pela espécie e método de colheita.

Coleta de urina pelos seguintes métodos:

- Micção espontânea em caninos ou ruminantes (através da massagem perineal)
- Cateterismo: machos caninos
- Cistocentese: pode ser auxiliada por ultrassonografia

Exame de urina:

Transferir 5mL de amostra para um tubo cônico

1. Exame físico

- Mensurar a quantidade de amostra em cada frasco.
- Determinar a coloração de cada amostra.
- Classificar a amostra através do grau de turvação. Avaliar colocando o tubo contra uma folha com escritas em preto. Amostras límpidas permitem que seja feita a leitura do escrito quando colocado contra o papel.

2. Exame químico:

- Com o auxílio de uma pipeta Pasteur plástica, pipetar uma gota de amostra em cada almofada reagente. Após o tempo sugerido, fazer a leitura comparando com a graduação fornecida pelo fabricante.

3. Sedimento

- Colocar 5mL (no mínimo 2mL) de urina em um tupo cônico, fechar e centrifugar a 1500rpm por 5 minutos. Após, observar a presença ou ausência de sedimento e gordura que deve ser removida da camada superior do sobrenadante.
- Analisar a densidade urinária. Pipetar 1 gota na lente do refratômetro e fazer a leitura. Se a densidade for superior a escala, diluir a urina 1:1 com água destilada e duplicar os 2 últimos dígitos da leitura (ex. 1024=1048) ou usar o urodensímetro.
- Retirar cuidadosamente o sobrenadante com pipeta Pasteur e deixar 1mL para ressuspender o pellet. Em amostras de reduzido volume, usar 20% da quantidade total.
- Após ressuspender o sedimento: Adicionar 1 gota em uma lâmina limpa, cobrir com lamínula; e em outra lâmina, pipetar 1 gota do sedimento em uma lâmina e 1 gota do corante azul de metileno.

- Exame no microscópio:

Abaixar o condensador para melhor visualização das estruturas. Usar a objetiva de 10x para verificar a presença de cilindros e células epiteliais. Anotar os números em campos de pequeno aumento (CPA). Usa-se a objetiva de 40x para observar as seguintes estruturas:

- Bactérias: descrever morfologia e quantidade (+, ++, +++); - Cristais: tipo e quantidade (+, ++, +++); - Eritrócitos/CGA (normal=0-5); - Leucócitos/CGA (normal=0-5); - Muco (positivo ou negativo); - Gotículas de gordura (positivo ou negativo); - Parasitas e fungos (tipo e morfologia); - Espermatozóides (+, ++, +++); - Cristais e cilindros pode ser visualizados em sedimento não corado enquanto células e microrganismos, em sedimento corado.

Para essa atividade, pode-se usar amostras de rotina adequadamente armazenadas. Para isso, após a amostra ser analisada, a mesma pode ser conservada no próprio tubo cônico que será vedado com plástico. A amostra deve ser refrigerada por tempo indeterminado.

8.9. Atividade extra: diferenciar hemoglobina de mioglobina

Como já mencionado, hemoglobinúria deve ser diferenciada da mioglobinúria, sendo as causas mais comuns de hemoglobinúria anemia hemolítica imunomediada, e de mioglobinúria a mioglobinúria parolítica dos eqüinos e acidente botrópico (cascavel).

Obtenha dois tubos de ensaio, um contendo 1mL de sangue recém colhido misturado com 9mL de água destilada (para romper as hemácias) e outro contendo 1mL de extrato de músculo fresco (se possível bater no liquidificador) também adicionado a 9mL de água destilada. Identificar os tubos com números de modo a não induzir ao resultado final. Em seguida proceder ao método padrão descrito neste capítulo.

QUADRO 8.6. Comparação das alterações encontradas na urinálise em algumas doenças renais e não renais.

Doença	Exame físico/químico	Sedimento
Doença renal aguda	densidade normal densidade reduzida proteinúria	cilindros leucócitos e hemácias
Insuficiência Renal Aguda (IRA)	densidade reduzida*	cilindros leucócitos e células epiteliais
Insuficiência Renal Crônica (IRC)	densidade reduzida* pH reduzido	poucos ou sem cilindros
Cistite	proteinúria pós-renal	bacteriúria, leucocitúria
Neoplasias urinárias	densidade normal densidade baixa	células neoplásicas hematúria
Hemólise	hemoglobinúria urobilinogênio elevado	hematúria
Hepatopatia	bilirrubina urobilinogênio alterado	cristais de bilirrubina
Diabetes melito	glicosúria, cetonúria	bacteriúria, leucocitúria
Diabetes insípido	densidade reduzida, poliúria	

*Animal desidratado/ cão – densidade abaixo de 1030 e gato abaixo de 1034.

PARTE 9: FUNÇÃO HEPÁTICA

9. 1. Anatomia do fígado

O fígado é a maior glândula isolada do corpo, e corresponde a 2-5% do peso corporal no organismo. As numerosas e variadas funções hepáticas são desempenhadas por dois tipos celulares: o hepatócito e a célula de Kupffer. A célula de von Kupffer, um componente do sistema macrofágico, reveste regiões dos sinusóides hepáticos, estando intimamente associada ao hepatócito. A atividade fagocitária do fígado é explicada pela função dessa célula.

O potencial mitótico dos hepatócitos é mantido durante toda a vida do organismo. Esta propriedade, somada à hipertrofia, são os principais responsáveis pela restauração do órgão lesado. Embora a lesão aguda por substâncias tóxicas possa ser seguida pela completa recuperação do órgão, a exposição crônica geralmente resulta na alteração da função orgânica, na diminuição do tamanho do órgão e no aumento do tecido conjuntivo fibroso intra-hepático (cirrose).

O fígado é composto de lobos recobertos por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo que se continua com o tecido conjuntivo intersticial (interlobular). O tecido conjuntivo intersticial é proeminente naquelas regiões interlobulares chamado espaço porta. Os lóbulos hepáticos, delineados pelo tecido conjuntivo interlobular, são a unidade morfológica do fígado. Essas massas prismáticas e poligonais são formadas por placas ou lâminas de hepatócitos interdigitadas entre os capilares sinusóides anastomosados. As placas celulares e de sinusóides parecem irradiar-se a partir de um vaso centralmente posicionado, a veia centrolobular. Os sinusóides hepáticos formam o leito vascular intralobular. O sangue dos vasos interlobulares é transportado pelos sinusóides para as veias centrolobulares.

O sistema de ductos biliares do fígado é formado pelos canaliculos biliares, pelos ductos intra-hepáticos e pelos ductos extra-hepáticos, para a condução da bile dos hepatócitos para o duodeno. Os sistemas de células secretoras e de túbulos condutores formam os componentes glandulares exócrinos do fígado.

9. 2. Funções do fígado

As funções hepáticas diretamente relacionadas com os hepatócitos são as seguintes:

Síntese e armazenamento

Além de sintetizar substâncias necessárias para a integridade funcional e estrutural das células componentes, os hepatócitos sintetizam albumina, fibrinogênio, α e β -globulinas, lipoproteínas e colesterol. O glicogênio é sintetizado a partir da glicose (glicogênese) e armazenado nos hepatócitos sendo que a liberação de glicose dos estoques (glicogenólise) ocorre em casos de demanda somática. Da mesma forma, ocorre com os estoques lipídicos do fígado. Vitaminas como A, D, K e complexo B também são armazenadas e sintetizadas no fígado. Embora a síntese e a secreção de proteínas correspondam às principais funções dos hepatócitos, não parece haver armazenamento de proteínas no fígado. Elas são secretadas para o sangue à medida que são sintetizadas. O fígado produz ainda todos os fatores de coagulação, com exceção do fator VIII e do Cálcio.

Secreção e excreção

As funções excretoras do fígado estão relacionadas à síntese e secreção de substâncias que são lançadas à bile (função exócrina do fígado). Os constituintes primários da bile são os sais biliares, compostos basicamente de sais de sódio e potássio, do ácido glicocólico e ácido taurocólico. O ácido cólico, formado a partir do colesterol, é conjugado com a glicina e a taurina para a formação dos sais biliares. Estes emulsificam as gorduras do intestino delgado, formando complexos hidrossolúveis com os lipídios de modo a facilitar a absorção lipídica e a ativar as lipases intestinais.

A **bilirrubina** é um pigmento biliar derivado do metabolismo da hemoglobina. Ela é conjugada a um ácido glicurônico pela glicuronil-transferase nos hepatócitos. Embora a bilirrubina forme a porção pigmentada das secreções exócrinas dos hepatócitos, a conjugação

da bilirrubina com o ácido glucurônico é uma importante função detoxificante das células hepáticas. O colesterol, as gorduras, os fosfolípidios, os eletrólitos e outros compostos orgânicos também são componentes da bile. A reabsorção seletiva de alguns componentes da bile e a sua ressecção posterior pelo fígado são realizadas através da circulação entero-hepática.

Biotransformação

O organismo produz (hormônios, metabólitos), absorve (toxinas) ou recebe a inoculação (drogas) de muitos compostos biologicamente ativos e/ou tóxicos. Muitos destes compostos sofrem a ação do fígado, que altera sua toxicidade, reduz sua atividade e os elimina. Esses processos, considerados de forma geral como detoxificação, nem sempre resultam na neutralização das substâncias selecionadas. Em consequência de alguns tipos de atividades hepáticas, algumas drogas se tornam mais tóxicas para o organismo após sua metabolização.

A biotransformação de muitos compostos químicos ocorre no retículo endoplasmático liso, na mitocôndria e no citosol dos hepatócitos. As reações biotransformadoras podem ser divididas em reações de síntese e não-sintéticas. A reação de síntese ou conjugação envolve a união de substâncias a vários compostos reativos endógenos - glicuronato, ácido acético, sulfatos ou aminoácidos. As reações não-sintéticas envolvem as reações oxidativas, redutoras e hidrolíticas. O fígado produz diversas enzimas envolvidas no ciclo de excreção de resíduos proteicos (amônia) na forma de uréia.

A função fagocitária das células de Kupffer complementa a atividade biotransformadora do hepatócito.

Metabolismo

O fígado está envolvido em todos os aspectos do metabolismo dos carboidratos, das proteínas e dos lipídios. A gliconeogênese, a síntese de glicose a partir dos aminoácidos glicogênicos, os intermediários do ciclo do ácido láctico, são aspectos significantes do metabolismo dos carboidratos nos hepatócitos.

A maior parte da oxidação das gorduras ocorre nos hepatócitos. A formação de corpos cetônicos também ocorre no fígado.

O metabolismo proteico inclui diversas reações. A desaminação e a produção de acetoácidos são importantes na síntese de lipídios (aminoácidos cetogênicos) e de carboidratos (aminoácidos glicogênicos). O fígado tem a capacidade de sintetizar aminoácidos não-essenciais, sendo que o fígado e outros tecidos podem converter um aminoácido em outro, através das reações de transaminação. A alanina amino transferase (ALT) é uma transaminase hepato-específica dos carnívoros e utilizada para avaliação de lesão hepática, pois é liberada por hepatócitos lesados. A formação de uréia nos hepatócitos é o meio pelo qual o organismo excreta os produtos residuais nitrogenados. A uréia também contribui para o mecanismo de contra-corrente do rim; ela influencia portanto a concentração de urina.

Embora o fígado assuma um papel passivo no armazenamento de vitaminas, a função hepática e a secreção da bile são essenciais para a absorção de vitaminas lipossolúveis (A,D,E,K) no trato intestinal. O fígado também assume um papel ativo no metabolismo da vitamina D.

Hematopoiese

Embora a hematopoiese seja uma função hepática durante o desenvolvimento fetal, o potencial para a produção de células sanguíneas é mantido no adulto.

9. 3. Avaliação de função e lesão hepáticas

Dos sistemas e órgãos que podem ser avaliados por dados de patologia clínica, o fígado é um dos que causam maior frustração. A função de metabolismo e detoxicação o tornam associado a diversas outras patologias extra-hepáticas. Além disso, as próprias doenças hepáticas, como doenças inflamatórias severas, tóxicas e neoplásicas, devem ser consideradas. Muitas vezes apenas a biópsia hepática é auxílio diagnóstico seguro de diferenciação da doença hepática primária e secundária. Em todos os casos, os dados de laboratório clínico devem ser avaliados à luz dos sinais clínicos e história do paciente.

Os testes bioquímicos específicos utilizados para avaliar a função hepática podem ser caracterizados em quatro grupos:

1. Testes indicativos de: **Extravasamento hepatocelular** - Alanina aminotransferase (ALT), Aspartato aminotransferase (AST) e Sorbitol desidrogenase (SDH); **Indução na resposta à colestase ou drogas** - Fosfatase Alcalina (FA), Gama-glutamil transferase (GGT);
2. Testes relacionados à entrada, conjugação e secreção hepática: Bilirrubina e Ácidos biliares;
3. Testes relacionados com o “clearance” portal: Ácidos biliares e Amônia;
4. Testes relacionados com a síntese hepática: Albumina, Glicose, Uréia e Fatores de coagulação.

9. 4. Indicações para exames hepáticos específicos

Os exames bioquímicos de função hepática devem ser requisitados somente após histórico detalhado do paciente e exame clínico criterioso. Caso seja indicado, realizar primeiro os exames de primeira linha (urinálise, hemograma e exame de fezes). As principais indicações destes exames específicos são:

1. Doença hepática primária (com ou sem icterícia): hepatite infecciosa, necrose tóxica, hemangioma hepático, hepatite supurativa e adenoma do ducto biliar;
2. Doença hepática secundária: lipidose infiltrativa: hipotireoidismo e Diabetes melito, doenças pancreáticas, congestão passiva: cardiopatias e intoxicações;
3. Diagnóstico diferencial das icterícias: pré-hepática: hemolítica, hepática e pós-hepática: obstruções;
4. Sinais de desvios no metabolismo sem causa determinada: proteínas: emagrecimento, ascite, edemas; carboidratos: emagrecimento, apatia e lipídios: emagrecimento;
5. Prognóstico: avaliação da terapêutica, avaliação da lesão tecidual e riscos anestésicos à cirurgia.

A. Provas enzimáticas

A utilização de dosagens enzimáticas como método auxiliar nos problemas hepáticos é largamente utilizada na medicina veterinária. Estas enzimas aumentam na circulação à medida que são liberadas pelas células de origem. Esta liberação pelos hepatócitos pode ocorrer por:

- Alteração na permeabilidade celular: reações inflamatórias, degeneração celular;
- Necrose celular: ingestão de drogas hepatotóxicas, cirrose crônica (pode possuir **valores normais de ALT ou diminuídos**).

Dependendo da espécie, as enzimas podem ser localizadas em maior ou menor quantidade no hepatócito ou em outros órgãos além do fígado. Dessa maneira, a ALT está em maior quantidade nos hepatócitos de pequenos animais enquanto que em ruminantes e eqüinos a AST é predominante. Além dos hepatócitos, a FA pode estar localizada em quantidades significativas no tecido ósseo, mucosa intestinal, placenta e rins. A GGT está localizada também em ductos biliares, rins, pâncreas e intestinos. Devido a essa diversidade de locais é impreterível que a interpretação seja feita aliada à história clínica do paciente.

Enzimas hepatocelulares

Aminotransferases

As aminotransferases (ALT e AST) são enzimas intracelulares que têm por função a transferência de grupos amino durante a conversão de aminoácidos a α -oxo-ácidos. Ambas são encontradas no citosol celular enquanto a AST também possui uma isoenzima mitocondrial.

Alanina amino transferase (ALT ou TGP)

Os testes que mensuram a atividade desta enzima sérica podem ser considerados como válidos para indicar uma lesão hepática apenas em cães e gatos. A ALT é considerada hepato-específica porque um significativo aumento em sua atividade sérica somente é observado na degeneração ou necrose hepatocelular. Entretanto, tem reduzida especificidade, pois animais com doença hepática severa como cirrose ou neoplasia podem apresentar valores normais de ALT. A necrose muscular severa pode elevar os valores de ALT em cães sem que haja doença hepática concomitante; no entanto degenerações ou necrose focal da massa muscular não elevam sua atividade sérica.

Um discreto aumento na atividade da ALT está relacionada a congestão e esteatose hepáticas. Embora a magnitude da elevação da ALT não esteja correlacionada com a

gravidade da doença primária, aumentos marcantes na atividade da ALT (três vezes o normal) são observados em hepatites tóxicas ou infecciosas, necrose celular, congestão hepática, colangites e colangiohepatites, obstrução de ducto biliar e determinadas neoplasias (carcinoma). Devido a proximidade do pâncreas ao fígado, eventualmente as pancreatites podem induzir um dano mecânico no fígado promovendo a elevação da ALT sérica. Um aumento significativo da ALT pode ser observado na cirrose hepática, porém valores normais são relatados devido a substituição dos hepatócitos por tecido fibroso.

Outras causas de aumento da atividade da ALT são: hemólise da amostra e administração de determinadas drogas como acetaminofen (em gatos), nitrofurantoína, penicilinas, fenilbutazona e sulfonamidas. A redução da ALT não possui significado clínico.

Aspartato amino transferase (AST ou TGO)

A AST em caninos, felinos e primatas tem pouco valor diagnóstico devido as reduzidas concentrações em vários tecidos. Nessas espécies, a AST está localizada na mitocôndria do hepatócito e por isso, a elevação da atividade dessa enzima está relacionada a severidade da agressão hepática.

Para ruminantes, eqüinos, lagomorfos e aves é indicada para diagnóstico de lesões hepáticas e eventualmente musculares.

Outros tecidos como o tecido muscular e eritrócitos possuem quantidades significativas de AST. O exercício intenso e a necrose muscular podem elevar tardiamente a atividade da AST no soro. Nesses casos, a creatina quinase (CK) estará elevada sendo que seus níveis reduzem antes mesmo dos níveis da AST.

O aumento, desde que se excluam lesões musculares e cardíacas, pode ser interpretado como sendo consequência de uma lesão hepática. Isto porque há um aumento da atividade sérica na degeneração e/ou necrose de hepatócitos e/ou músculos esqueléticos e cardíacos. Outras causas de elevação da AST são a hemólise e a administração de drogas hepatotóxicas.

Sorbitol desidrogenase (SDH)

O sorbitol desidrogenase (SDH) é uma enzima hepatoespecífica na maioria das espécies, com mínima atividade em outros tecidos. O seu uso não é rotineiro na bioquímica clínica veterinária, pois se trata de uma enzima muito instável. Estudos recentes, no entanto, têm demonstrado que há considerável estabilidade em eqüinos e pequenos animais.

Enzimas colestáticas

Fosfatase Alcalina (FA)

A fosfatase alcalina é uma enzima mitocondrial que pode ser encontrada em vários tecidos, principalmente tecido ósseo, sistema hepato-biliar e mucosa gastro-intestinal; em menor grau nos rins, placenta e baço. Esta enzima é recomendada para avaliar **colestase em cães e bovinos**.

O aumento pode estar relacionado a doenças que lesem os ductos hepáticos, como a colestase intra ou extra-hepática; mas também por atividade das isoenzimas extra-hepáticas, como crescimento ósseo nos filhotes, **isoenzima esteroide induzida por corticóide, observada apenas em canídeos**. Devido a isso, a interpretação dos valores de FA deve ser feita aliada a história clínica do paciente.

Felinos domésticos possuem menores quantidades de FA hepatocelular e por isso, qualquer elevação da atividade nessa espécie é significativa para o diagnóstico de distúrbios hepatocelulares. Nem todos os felinos com doença hepatocelular podem apresentar elevação da FA. Alterações nos valores dessa enzima estão relacionadas à: lipidose hepática, colangites e colangiohepatites, hipertireoidismo e diabetes melito.

Em caninos, a elevação da FA (três vezes o valor normal) é observada nas doenças hepatobiliares (inclusive neoplasias), no hiperadrenocorticismismo, na administração de glicocorticóides e anticonvulsivantes, nas fraturas. Outras causas de elevação da atividade da FA não relacionados a doenças hepatobiliares são: hemólise e crescimento ósseo (animais jovens).

Em eqüinos e bovinos, existe uma variação muito grande no seu nível sérico em animais normais, o que dificulta a interpretação dos resultados. Nestas espécies torna-se necessário realizar outros testes em associação, como a GGT e as bilirrubinas.

Gama glutamil transferase (GGT)

A gama glutamil transferase é um marcador enzimático sérico valioso nas desordens do sistema hepatobiliar resultando em colestase. Possui alta atividade principalmente nas espécies bovina, equina e em pequenos ruminantes; apresenta-se em baixas concentrações em cães, onde preferencialmente realiza-se a fosfatase alcalina. Em gatos, a GGT tem maior sensibilidade e especificidade para determinar doenças hepatobiliares exceto a lipidose hepática onde observam-se valores elevados da FA. Portanto, a **GGT é indicada para avaliar colestase em gatos e eqüinos**.

As causas de elevação nos níveis séricos de GGT são similares àquelas observadas para FA em pequenos animais com exceção de distúrbios ósseos (principalmente fraturas). Além de sua atividade hepática, outras isoenzimas estão localizadas nos rins, pâncreas e intestinos.

B. Provas funcionais**Prova de excreção de bromossufaleína (BSP)**

Após a aplicação intravenosa de BSP, a substância é rapidamente eliminada do organismo, pelo sistema hepato-biliar. A velocidade de excreção é um índice da massa hepática funcional, embora esteja também na dependência da velocidade do fluxo sanguíneo e da permeabilidade normal das vias biliares. Causas de aumento nos valores de BSP incluem problemas hepato-celulares, e ainda o infarto do miocárdio e necrose do músculo esquelético, e a pancreatite aguda e necrose renal. Esta prova foi abandonada na rotina laboratorial humana e veterinária há pelo menos uma década.

C. Outras provas bioquímicas**Uréia sanguínea**

Apenas nas lesões hepáticas extensas pode-se observar diminuição do nível de uréia sérica, desde que não haja lesões renais retardando muito sua eliminação.

Tempos de coagulação (TP, TTPa)

Quase todos os fatores de coagulação são produzidos no fígado, e conseqüentemente há um aumento nos tempos de coagulação em extensas lesões hepáticas.

INDICAÇÃO DE PROVAS ENZIMÁTICAS

Lesão hepatocelular aguda	Colestase	Lesão hepatocelular crônica
ALT (cão e gato)	Bilirrubinas	BSP
AST (grandes animais)	FA (cão, gato)	Proteínas séricas: albumina/globulina
SDH	GGT (bovino)	Perfil protéico eletroforético

Urinalise

Nas icterícias e lesões hepáticas pode ocorrer bilirrubinúria e presença de cristais de amônia.

9. 5. Proteínas plasmáticas

As proteínas plasmáticas são sintetizadas principalmente no fígado e são constituídas de aminoácidos obtidos após quebra e absorção intestinais. Na interpretação da hipoproteïnemia deve-se buscar as causas básicas desta fisiologia:

“falha na ingestão, falha na absorção, falha na síntese ou perda protéica”

Sua classificação quanto à forma química é a seguinte:

1. Proteínas simples contendo os elementos básicos dos aminoácidos: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e enxofre.
2. Proteínas conjugadas a outros elementos ou compostos: metaloproteínas - ferritina (ferro); glicoproteínas - glicohemoglobina; fosfoproteínas - caseína (fosfato); lipoproteínas - colesterol, triglicérides; nucleoproteínas - ribossomais.

A unidade fundamental para a estrutura protéica nos animais são os vinte aminoácidos naturais. Nove destes não são sintetizados (essenciais) e devem ser obtidos da dieta; os aminoácidos não-essenciais são sintetizados através de reações de transaminação.

O maior sítio de síntese de proteínas plasmáticas é o fígado, com o segundo maior sítio

sendo constituído pelo sistema imune e seus tecidos como o sistema retículo endotelial, linfócitos e plasmócitos; outras proteínas sintetizadas nos tecidos e células somáticas estão presentes em menor quantidade. Em geral, o plasma contém em torno de 5 a 7g/dl de proteínas totais; se a hemoglobina for incluída este valor chega a 20g/dl.

A. Funções das proteínas

As funções protéicas no organismo são inumeráveis. As proteínas formam a base da estrutura celular, órgãos e tecidos, mantém a pressão colóido-osmótica, catalisam reações bioquímicas na forma de enzimas, mantém o equilíbrio ácido-base, são reguladoras como hormônios, atuam na coagulação sanguínea, na defesa humoral como anticorpos, são nutritivas e servem de carreadores e transporte à muitos constituintes plasmáticos.

B. Frações das Proteínas Plasmáticas

As principais frações são a albumina e as globulinas, mas há diversas outras proteínas sanguíneas. Há em torno de 200 proteínas plasmáticas diferentes descritas no homem e animais. Os tipos e os percentuais de cada proteína são característicos, variando, portanto a proporção das frações entre as espécies e também entre os indivíduos de uma mesma espécie (figura 9.1). As frações das proteínas, suas funções e algumas alterações estão apresentadas no quadro 9.1.

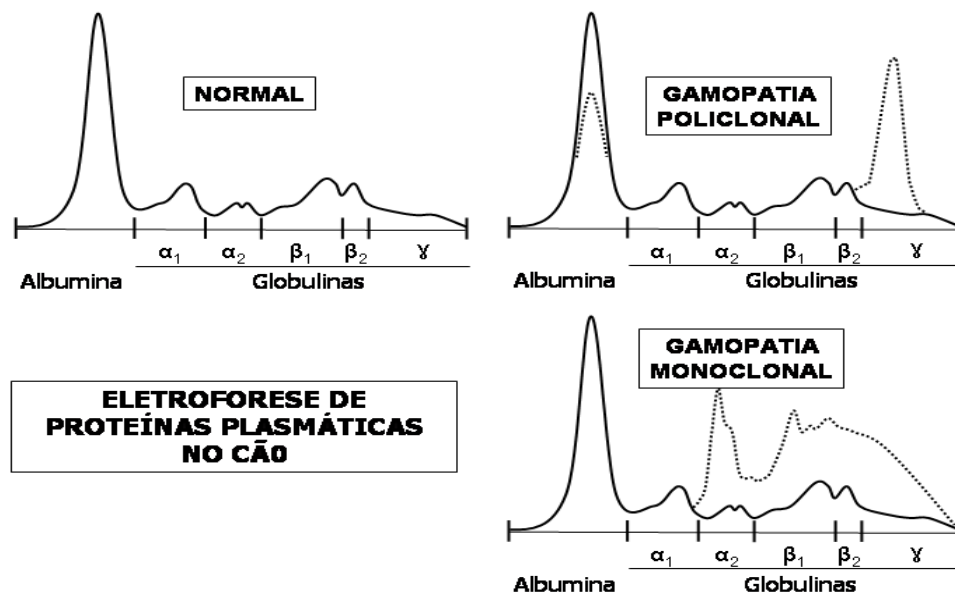


FIGURA 9.1. Frações da proteína no cão.

Importante: o aumento ou diminuição das proteínas plasmáticas totais deve ser interpretado de modo a se **individualizar o máximo possível** as frações responsáveis por esta alteração. A generalização diagnóstica na hiper ou hipoproteinemia invariavelmente induz ao erro.

Pré-albumina

A pré-albumina possui a mais rápida migração eletroforética, sendo que pode não existir em algumas espécies animais. A única função conhecida é a de ligação e transporte da tiroxina.

Albumina

A albumina é a mais abundante das proteínas séricas eletroforéticas. Nos animais faz parte de 35 a 50% do total de proteínas séricas.

A albumina é sintetizada no fígado, como as demais proteínas exceto as imunoglobulinas, e é catabolizada por tecidos metabolicamente ativos. Ela é a maior reserva orgânica de proteínas e transporte de aminoácidos.

Também, devido à sua abundância, é a proteína mais osmoticamente ativa,

responsável por 75% da atividade osmótica do plasma. Quando há hipoalbuminemia ocorre extravazamento de líquidos por perda da pressão osmótica, causando ascite e edemas. Outra importante função é a de proteína de ligação e transporte de muitas substâncias séricas, como a tiroxina e a bilirrubina não conjugada.

Globulinas

α -globulinas: constituem a fração que mais rapidamente migra das globulinas, por isso o nome “alfa”. Possui duas frações: a rápida (α_1) e a lenta (α_2). A grande maioria destas proteínas é sintetizada no fígado, e cada um dos diversos tipos possui atividade específica. Atuam no transporte de tiroxina, lipídios, insulina, cobre, hemoglobina, na inibição da tripsina, quimiotripsina, trombina, como anticoagulante, proteases, etc. O seu decréscimo ocorre nas hepatopatias, malnutrição, síndrome nefrótica; o seu aumento principalmente nas doenças inflamatórias agudas.

β -globulinas: as mais importantes proteínas desta fração são os complementos (C3, C4), hemopexina, transferrina, ferritina e proteína C reativa. O fibrinogênio também é um importante indicador proteico de fase aguda, isto é, seu aumento indica um processo inflamatório agudo.

γ -globulinas: compõem-se das imunoglobulinas e suas frações IgA, IgG, IgM, IgE. A identificação e quantificação específica destas imunoglobulinas requerem o uso de técnica imunoquímica sofisticada. A fonte das imunoglobulinas é os plasmócitos, diferenciados a partir de linfócitos sensibilizados por estimulação antigênica, parte do processo imunológico da resposta humoral.

C. Interpretação das disproteinemias

Influências fisiológicas

Idade e desenvolvimento

No feto, a concentração de proteínas totais e albumina progressivamente aumentam com uma ligeira mudança nas globulinas e quase ausência da fração de proteínas γ -globulinas. Nos ruminantes e eqüinos ao nascimento é normal, portanto esta ausência será suprida pela ingestão do colostro materno; após esta ingestão haverá um aumento transitório das proteínas totais. Em quase todos os animais há um aumento nas proteínas totais, um decréscimo na albumina e um aumento nas globulinas com o avançar da idade, e nos idosos as proteínas totais tornam a declinar.

Hormônios

Efeitos hormonais agem nas proteínas séricas quando atuam no anabolismo ou catabolismo protéico. A testosterona, estrógeno e o hormônio do crescimento são geralmente anabólicos, aumentando as proteínas. Do contrário, a tiroxina e os corticóides (tenuamente) promovem uma redução nas proteínas.

Gestação e lactação

Geralmente durante a gestação há um decréscimo da albumina e um aumento das globulinas, seguido de queda pós-parto nas espécies que possuem colostro. A lactação promove mudanças semelhantes, devido ao consumo das reservas protéicas e alta atividade metabólica.

Nutrição

As proteínas do plasma são sensíveis às influências nutricionais, mas na maioria dos casos torna-se difícil sua interpretação. Quando há depleção da dieta protéica dos animais ocorre hipoproteinemia e hipoalbuminemia.

Estresse e perda de líquidos

Estresse de temperatura, quente ou frio, é associado à perda de nitrogênio, aumento na atividade adrenal e catabolismo protéico, com decréscimo nas proteínas totais e albumina. O mesmo ocorre em animais que sofrem injúrias como fraturas ósseas e extensas cirurgias.

No processo inflamatório há saída de líquido e proteínas para os tecidos, com queda

nas proteínas; o mesmo é observado em hemorragias ou exsudação. Na desidratação ocorre uma hemoconcentração, aumentando os valores das proteínas.

QUADRO 9.1. Frações das proteínas, suas funções e algumas alterações.

Proteína			Função		Mudança na doença
Pré-albumina			transporte tiroxina	↑ ↓	síndrome nefrótica hepatopatia, def. proteica
Albumina			pressão osmótica, transporte	↑ ↓	desidratação probl. hepático, renal, intestinal subnutrição, perda sanguínea
G l o b u l i n a s	α	1	transporte de lipídios e outros	↑	doença inflamatória aguda
		2	inibe enzimas	↓	probl. hepático, renal, intestinal
		haptoglob.	transporte hemoglobina	↑	doença inflamatória aguda
	β	Prot. C	protease, anticoagulante	↑	doença inflamatória aguda
		1 e 2	transporte lipídios	↑	doença inflamatória aguda
		Transferrina	transporte de ferro	↑ ↓	anemias, def. ferro doença hepática, inflam. aguda
		Ferritina			
		C3 e C4	fatores do complemento	↑	doença inflamatória aguda
		Fibrinogênio	precursor da fibrina	↑	doença inflamatória aguda
s	γ	Anticorpos	imunidade humoral	↑ ↓	ativação imune, hepatopatia def. anticorpos

Relação Albumina: Globulina (A:G)

A melhor maneira de se avaliar as alterações das proteínas séricas é através da interpretação da relação albumina:globulina (A:G), associada, quando possível, com o perfil eletroforético das proteínas. No quadro 9.2 estão representadas as relações A:G, perfil eletroforético e prováveis causas e patologias.

QUADRO 9.2. Interpretação das disproteinemias.

Relação A:G	Perfil eletroforético	Causas prováveis	Prováveis patologias
↓	Alterado	↓ Albumina	Perda seletiva de albumina (doença renal e gastrointestinal), decréscimo de síntese de albumina (hepatopatia, má nutrição)
		↑ α-globulina	Doença inflamatória aguda, severa hepatite ativa, nefrite aguda ou síndrome nefrótica
		↑ β-globulina	Hepatite aguda, síndrome nefrótica, dermatopatias supurativas
		↑ γ-globulina	Doença inflamatória crônica, doença infecciosa, hepatite crônica, abscesso hepático, doença supurativa, doença imuno-mediada, tumores (linfossarcoma, mieloma múltiplo)
Normal	Normal	Hiperproteinemia	Desidratação (vômito, diarreia, queimaduras)
		Hipoproteinemia	Super hidratação, perda aguda de sangue, perda externa de plasma (doenças exsudativas, diarreia), perda interna de plasma (doença gastrointestinal, parasitas)

9. 6. Bilirrubinas

Função normal

As bilirrubinas são formadas através da degradação da hemoglobina. A hemoglobina é essencial para a manutenção da vida pois carrega e libera oxigênio para os tecidos. Em torno de 400 milhões de moléculas de hemoglobina estão presentes num eritrócito. A hemoglobina é uma proteína conjugada composta das frações heme e globina. A fração heme é sintetizada na mitocôndria eritrocitária, e somente é produzida em células eritróides imaturas, até o estágio de reticulócito. A síntese da fração globina ocorre em ribossomos no citoplasma de eritrócitos nucleados. As diferenças nas sequências de aminoácidos das cadeias globina define a variação morfológica intra e inter-espécie.

A síntese final de hemoglobina na hemácia acontece com a penetração do ferro a partir da transferrina, com sua associação à protoporfirina que é sintetizada em grande parte da glicina e succinil CoA nas mitocôndrias, para formar o heme. Uma molécula de heme está fixada a uma das cadeias do polipeptídeo globina e uma molécula final de hemoglobina é composta de quatro unidades heme/globina.

A hemoglobina é liberada na forma livre quando ocorre hemólise, onde a união entre a hemoglobina e o estroma eritrocitário quebra-se por este agente hemolítico. A hemoglobina livre no plasma é rapidamente decomposta (meia vida de 4 horas) por oxidação, liga-se à haptoglobina e é rapidamente excretada pelos rins com hemoglobinúria, ou destruída pelo SRE (sistema retículo endotelial). O excesso livre é oxidado em meta-hemoglobina, que se dissocia e libera hematina. A hematina liga-se à hemopexina e albumina sucessivamente, e estes complexos são removidos pelos hepatócitos.

Nos macrófagos o ferro da fração heme e os aminoácidos da fração globina são reciclados para uso. A protoporfirina é degradada em biliverdina pela heme microssomal oxigenase, na presença de oxigênio e NADPH. A biliverdina é então convertida a bilirrubina pela bilirrubina redutase, na presença de NADPH. As aves excretam somente biliverdina, pois não possuem bilirrubina redutase.

A bilirrubina liberada no plasma é ligada à albumina para o transporte até as células hepáticas, onde é conjugada em ácido glicurônico pela enzima UDP - glicuronil transferase. A bilirrubina conjugada é normalmente secretada através dos canalículos biliares e excretada pela bile na luz intestinal. No trato intestinal a bilirrubina é degradada por bactérias (a antibioticoterapia pode matá-las) a urobilinogênio para sua excreção via fezes, com reabsorção parcial para a circulação geral e re-excreção biliar, no ciclo entero-hepático da bile. Pequenas quantidades de bilirrubina conjugada e urobilinogênio normalmente escapam à re-excreção hepática e são eliminadas na urina. A bilirrubina indireta não passa em condições normais para a urina, devido ao alto peso molecular do complexo bilirrubina-albumina (carreador), mas são circulantes e portanto também responsáveis pela icterícia.

Alteração das bilirrubinas

A bilirrubina é formada fisiologicamente através da degradação de hemoglobina de hemácias velhas pelos macrófagos. A bilirrubina não conjugada (indireta) é liberada pelos macrófagos e carregada pela albumina até o fígado. Os hepatócitos removem a bilirrubina da albumina e formam um diglicuronato de bilirrubina (direta ou conjugada) que será secretada pelos canalículos biliares até a bile. Deve-se lembrar que normalmente ao existir sinais clínicos de problemas hepáticos 80% deste órgão está comprometido.

Icterícia

A icterícia pode ser detectada no exame físico ou quando o plasma ou soro é examinado no laboratório, e nestas condições há um valor de bilirrubina total acima de 1mg/dL. A hiperbilirrubinemia sempre indica doença hepatobiliar ou hematopoiética. Entretanto, há doenças hepáticas e hematopoiéticas não relacionadas com a icterícia, e as doenças nestes sistemas podem ser ainda secundárias a outras doenças. A presença ou ausência de icterícia não pode ser avaliada com sentido diagnóstico ou prognóstico. Septicemia, ruptura vesical e enterites algumas vezes podem causar disfunção hepática secundária, podendo ocorrer icterícia.

Hiperbilirrubinemia

O aumento de bilirrubina, caracterizado pela icterícia, pode ser classificado quanto à sua origem de três formas. Liberação de bilirrubina em grande quantidade na circulação: pré-hepática; falha de conjugação: hepática e deficiência na secreção: pós-hepática.

Pré-hepática

Este tipo de icterícia é causado quando há aumento de aporte de bilirrubina ao fígado, causando uma sobrecarga à conjugação hepática (figura 9.2). Os sinais clínicos mais observados são urina e fezes escuras. O principal cuidado neste caso é retirar a causa **hemolítica** e deter bastante atenção ao quadro hematológico do animal.

A causa principal é a hemólise intravascular, que leva à hemoglobinemia (plasma avermelhado), gerando :

- ↑↑↑ bilirrubina não conjugada - ↓ hematócrito ou volume globular
- ↑ urobilinogênio sanguíneo e urinário
- ↑ ou não da bilirrubina conjugada

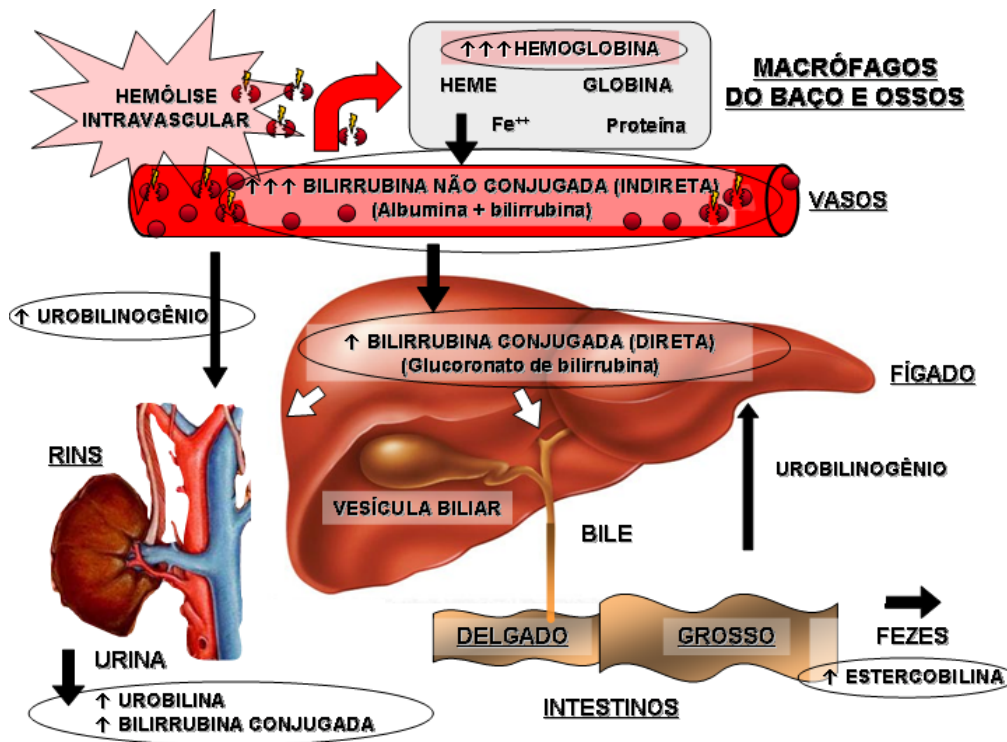


FIGURA 9.2. Esquema da Icterícia pré-hepática.

Hepática

A icterícia hepática é causada por uma disfunção hepática, com conjugação parcial da bilirrubina pelos hepatócitos devido à redução na capacidade enzimática (figura 9.3). Esta lesão acaba obstruindo os canalículos biliares, levando secundariamente à colestase.

A causa principal é a lesão tóxica ou infecciosa, que leva ao comprometimento da função hepática, gerando:

- ↑↑ bilirrubina não conjugada devido à disfunção
- ↑↑↑ da bilirrubina conjugada
- ↑ do urobilinogênio circulatório e urinário. Pode não haver este aumento por comprometimento do ciclo enterohepático.

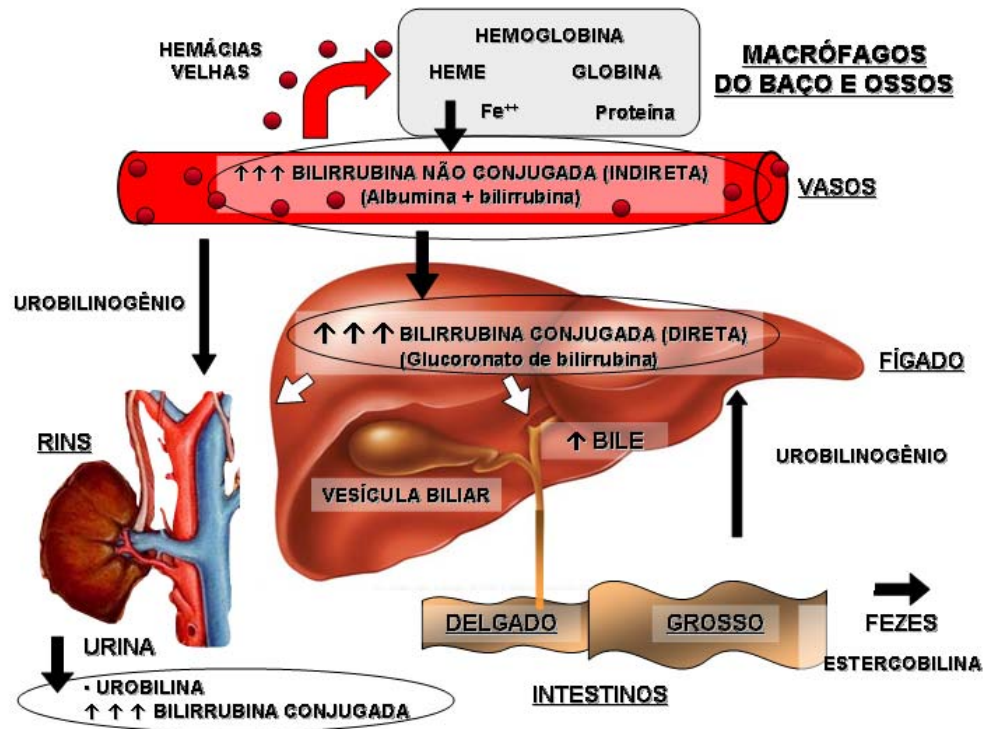


FIGURA 9.3. Esquema da Icterícia hepática.

Pós-hepática

A icterícia pós-hepática ocorre por obstrução das vias biliares gerando uma colestase, isto é, um acúmulo de bilirrubina conjugada (figura 9.4). Os sinais observados são esteatorréia, fezes claras e bilirrubinúria acentuada.

A causa principal é a lesão dos canais biliares, que leva ao aumento acentuado de:

- ↑↑↑ bilirrubina conjugada devido à obstrução
- ↑ ou não da bilirrubina não conjugada, dependendo da lesão hepatocelular causada pela colestase compressiva.
- Na obstrução total o urobilinogênio estará ausente.
- Observar sempre a história e clínica do animal, para tentar diferenciar a etiologia pós-hepática da hepática.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 9: dosagem de bilirrubinas**Análise**

A bilirrubina pode ser mensurada no soro ou plasma sanguíneo por espectrofotometria. A bilirrubina é estável a 4°C por até 7 dias se não for exposta à luz; cuidado fundamental no acondicionamento desta amostra portanto é envolver o tubo de colheita em papel alumínio. Há diferentes técnicas para separar-se a bilirrubina indireta (não conjugada) da direta (conjugada), variando segundo o “kit” de dosagem utilizado.

Severa hemólise pode atrapalhar as dosagens espectrofotométricas, aumentando seus valores. Um falso decréscimo ocorre quando há exposição à luz (em torno de 50% em 1 hora), e um falso aumento em amostras com lipemia. Valor normal em cães: 1,0 mg/dL.

No cavalo um fenômeno fisiológico causa um problema na interpretação das bilirrubinas. A anorexia ou jejum por 24 horas ou mais podem resultar em icterícia, que é causada em parte por metabólitos (como ácidos biliares) competindo com a bilirrubina pela demanda dos hepatócitos.

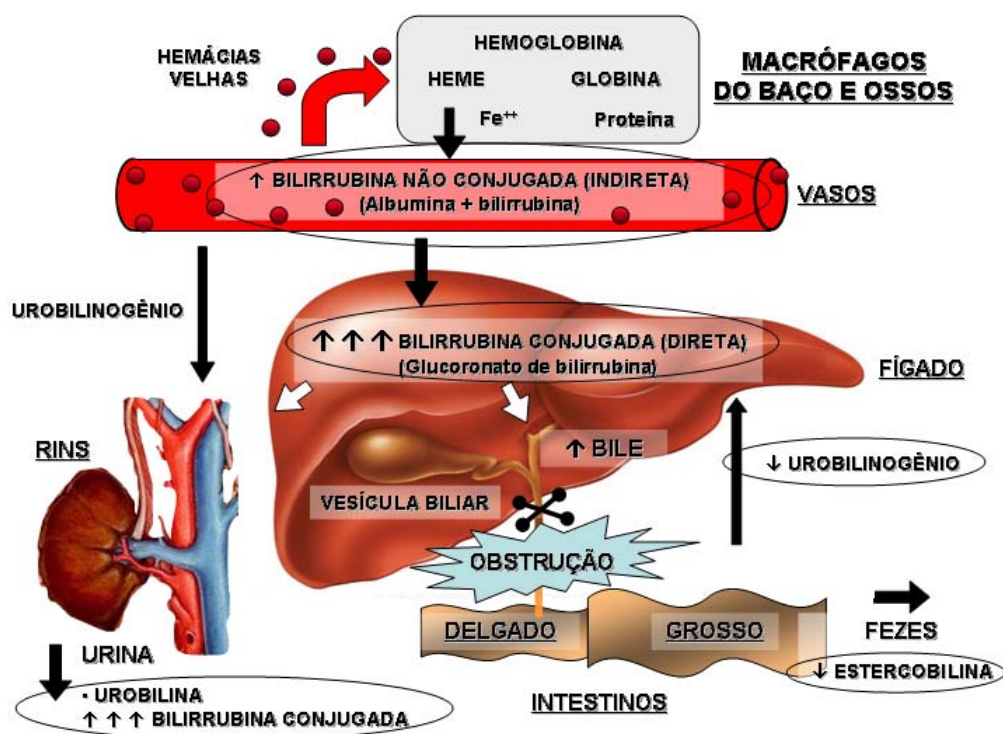


FIGURA 9.4. Esquema da Icterícia pós-hepática.

PARTE 10: FUNÇÃO PANCREÁTICA

O pâncreas é composto de duas partes, as porções endócrina e exócrina, com um estroma único. Deste modo, problemas principalmente inflamatórios, que acometam uma destas porções podem por contigüidade afetar a outra.

10. 1. Pâncreas exócrino

A. Fisiologia pancreática exócrina

A secreção pancreática é composta de uma mistura de enzimas e substâncias diluídas em solução de água e bicarbonato. As enzimas são produzidas por células acinares do pâncreas, arranjadas em aglomerados ao redor dos ductos pancreáticos terminais. O fluido pancreático no cão possui um pH entre 8,0 e 8,3, isosmótico com o plasma.

As células acinares secretam uma mistura de enzimas através dos ductos pancreáticos (um ou dois) localizados na porção do duodeno inicial, e estas enzimas estão envolvidas na digestão de proteínas, gorduras e carboidratos. O controle hormonal da secreção pancreática é realizado principalmente pela secretina e colecistoquinina (CCK), liberadas pela mucosa duodenal mediante estímulo vagal do sistema parassimpático.

As principais enzimas proteolíticas, que são secretadas como pró-enzimas inativas, são tripsinogênio, quimiotripsina e procarboxipeptidase. A ativação destas enzimas ocorre fisiologicamente na luz intestinal, e sua ativação prematura pode ocorrer, causando destruição tecidual. A lipase pancreática é secretada na forma ativa, mas sua atividade é exacerbada pelos sais biliares. Estes aumentam a eficiência da lipólise por ampliarem a área superficial de interface água-óleo, proporcionando ação da lipase hidrossolúvel. A lipase pancreática exibe atividade ótima em condições alcalinas e hidrolisa triglicerídeos a ácidos graxos e glicerol, mas mono e diglicerídeos também são produtos finais.

A amilase pancreática cataliza a hidrólise de amido e glicogênio para formar maltose e glicose residual. Vários outros órgãos, além do pâncreas, contêm amilases e sua diferenciação pode constituir um problema no diagnóstico das disfunções pancreáticas.

B. Doença pancreática exócrina

A doença pancreática, em suas várias formas, não é incomum em cães e gatos, podendo ocorrer também nas demais espécies. O pâncreas exócrino pode ser afetado por processos agudos ou crônicos, que podem levar a problemas digestivos associados à insuficiência pancreática.

C. Pancreatite aguda

A pancreatite aguda nas espécies pode ser de variável intensidade, causando desde discreto edema até necrose do tecido pancreático. As causas desta patologia ainda não são completamente conhecidas, e provavelmente sejam multifatoriais. Dentre os fatores incluem-se obesidade, dieta desbalanceada e rica em gorduras, isquemia tecidual, refluxo biliar, traumas abdominais, hipercalcemia e cálculos pancreáticos, hiperlipemia obstrutiva e agentes infecciosos.

A liberação de enzimas proteolíticas, glicolíticas e lipolíticas ativadas dos constituintes pancreáticos são o mecanismo principal da patogênese da pancreatite aguda. Este processo ativa diversas vias inflamatórias, como a via de complemento, cininas, coagulação, e sistema fibrinolítico.

O diagnóstico de pancreatite aguda é feito pelos sinais de dor abdominal aguda, vômitos, apatia e anorexia. Em associação ao hemograma, podem ser realizados exames bioquímicos mais específicos. A hiperamilasemia ocorre somente após 12 horas do início do processo, e pode ser um indicativo da injúria das células acinares e da obstrução do ducto pancreático. Entretanto as concentrações séricas de amilase no cão podem aumentar por causas extrapancreáticas, devido as isoenzimas localizadas nos intestinos, rins, útero, ovários e testículos. Assim admite-se que somente um aumento de 3 a 4 vezes nos valores desta enzima pode ser diagnóstico para a pancreatite aguda.

As concentrações de lipase perduram por mais tempo elevadas, quando comparado à amilase. No entanto também há problemas na utilização isolada desta enzima como recurso

diagnóstico, já que o tecido renal e hepático também possuem estas isoenzimas. Deste modo deve ser avaliado o aumento conjunto de lipase e amilase, e excluir ao máximo as causas extrapancreáticas deste aumento sérico. Isto pode ser obtido com exames de função renal e hepática, associado a exame clínico criterioso. Como o pâncreas produz um fator clarificador do plasma, a lipoproteína lipase, na sua ausência pode haver lipemia plasmática evidente, que pode ser relacionada à necrose do tecido pancreático. Pode-se observar ainda na pancreatite aguda, aumento de TGP ou ALT, fosfatase alcalina e colesterol.

D. Insuficiência pancreática

A pancreatite crônica é resultado de repetidos ataques de pancreatite aguda com destruição progressiva do tecido acinar e reposição com tecido conectivo fibroso, e pode levar à insuficiência funcional do pâncreas, que se caracteriza por perda de peso, polifagia e esteatorréia. Estes sinais são decorrentes da insuficiência na produção de enzimas pancreáticas, devido à destruição do tecido secretório.

A amilase e lipase séricas podem estar aumentadas numa exacerbação inflamatória do processo. No entanto, com a completa destruição do tecido acinar e conseqüente fibrose, provavelmente as enzimas estarão nos valores normais, ou mesmo reduzidas.

O exame das fezes constitui exame de triagem importante. O encontro de gorduras por meio de coloração de Sudam e visualização microscópica de fibras musculares mal digeridas são indícios de disfunção pancreática.

Há teste de função pancreática de fácil realização que podem fornecer importantes informações a cerca deste órgão.

10. 2. Pâncreas endócrino

A. Fisiologia pancreática endócrina

O pâncreas endócrino é encarregado de manter o equilíbrio nutricional do organismo, e o faz através do glucagon e insulina, produzidos respectivamente pelas células α e β das ilhotas de Langerhans.

A liberação de insulina é estimulada pela glicose, aminoácidos, hormônios (glucagon, gastrina, secretina). Sua liberação é inibida pela hipoglicemia e somatostatina. O fígado é o sítio primário de degradação da insulina, e este hormônio possui uma meia vida de 5 a 10 minutos. A principal ação da insulina é agir nas membranas celulares de maneira a permitir a entrada de glicose, mas também possui ação anabólica e de síntese, de ingestão alimentar e quociente respiratório, reduzindo os níveis séricos de glicose, cetona, ácido graxo, fosfato, potássio e aminoácidos.

B. Doença pancreática endócrina

A doença pancreática endócrina principal e mais freqüente é a diabetes melito. A doença ocorre em cães mais velhos, mais em fêmeas, frequentemente em associação ao estro e sem predisposição racial. Esta deficiência funcional pode ser causada por insuficiente secreção de insulina (tipo I) ou ainda por redução nos receptores periféricos (tipo II).

A diabetes tipo I está diretamente relacionada à deficiência do pâncreas em produzir insulina e, portanto seu tratamento é baseado na administração exógena deste hormônio. Dentre os fatores predisponentes, inclui-se genética, gestação, pancreatites, alterações hormonais, obesidade, medicamentos (glicocorticóides).

A diabetes tipo II, também chamada insulina não dependente por apresentar níveis normais de insulina, ocorre mais em animais velhos e obesos. O aumento de tecido adiposo parece ter influência na inibição da ação da insulina nos seus receptores. O tratamento é realizado com base na dieta alimentar associado a hipoglicemiantes, e o monitoramento deve ser constante, pois esta patologia pode evoluir para o tipo I.

Em ambos os casos, a baixa de insulina ou perda de sua ação, resulta em liberação de glicose, aminoácidos e ácidos graxos livres, com gliconeogênese a partir de aminoácidos. Como a glicose está indisponível, o organismo utiliza a via alternativa de obtenção energética, a partir das gorduras. Há aumento sérico de corpos cetônicos devido ao metabolismo gorduroso, com cetonemia, cetonúria, acidose sistêmica com cetoacidose, traduzindo os sinais de vômito, anorexia, depressão e fraqueza. A hiperglicemia é evidente, com conseqüente glicosúria, poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso.

Para obtenção de diagnóstico, o primeiro passo é a realização de urinálise com encontro de glicosúria acompanhada ou não de cetonúria, em associação à história e sinais

clínicos característicos. Em caso afirmativo, pode-se realizar:

C. Testes bioquímicos pancreáticos

Dosagem sérica de glicose

A dosagem sérica de glicose deve ser precedida de jejum por no mínimo doze horas, se a condição do animal permitir. A hiperglicemia pode estar associada à diabetes melito, mas também é observada em animais anestesiados (mobilização de glicogênio hepático para a circulação), em animais em choque (aumento de glicocorticóides) e pancreatites. A hipoglicemia pode ser encontrada no aumento de insulina (tumores), na acetonemia (vacas leiteiras e ovelhas gestantes), na hipoglicemia dos leitões.

Dosagem sérica de colesterol

Como a via normal de obtenção energética está bloqueada, o organismo utiliza os lipídios como fonte de energia. O aumento de colesterol é encontrado na diabetes melito, mas também em animais com dieta rica em gorduras, no hipotireoidismo, na icterícia obstrutiva e pancreatites. Na doença renal crônica e hepatopatias também há aumento de colesterol devido à hipoalbuminemia, pois a albumina é o carreador de colesterol. A diminuição de colesterol é observada nas hepatites graves, hipertireoidismo e nas caquexias e anemias graves.

Teste de tolerância à glicose

Este teste confirma o diagnóstico de diabetes melito, e pode ser utilizado para se saber o grau do processo e o tipo de diabete. Deve ser realizado paralelamente em animal controle sadio. Para que se tenha maior controle, o ideal é a administração intravenosa de glicose, na dose de 0,5g/kg, diluída. Os níveis séricos de glicose devem retornar ao normal dentro de 60 a 90 minutos. Caso a administração seja por via oral, o prazo é de 120 minutos.

QUADRO 10.1. Quadro comparativo entre os exames, pancreatite aguda e Insuficiência Pancreática.

Exames	Pancreatite aguda	Insuficiência pancreática
Fezes	aspecto pode estar normal gorduras e proteínas mal digeridas tripsina presente	fétida, pálida, volumosa, mole, gorduras e proteínas mal digeridas tripsina ausente
Lipídios	absorção normal ou reduzida	reduzida
Enzimas séricas	aumento de lipase e amilase (>4 x)	lipase e amilase aumentadas ou não
Glicose	normal ou aumentada	aumentada
Lipemia (jejum)	positiva	negativa
Outros	aumento de amilase urinária aumento de uréia / creatinina aumento de colesterol ou não leucocitose por neutrofilia	glicosúria leucocitose por neutrofilia ou não curva glicêmica anormal aumento de colesterol

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 10: função pancreática

Teste de absorção

Avalia função de lipólise e absorção de lipídios. Deve ser realizado em animal sadio paralelamente ao teste. Após jejum de 12 a 24 horas, colher sangue com heparina e centrifugar. Administrar ao animal 3mL/kg PV de óleo de milho, colhendo amostras sanguíneas seriadas com heparina, após 30 minutos, uma, duas e três horas. Observar turbidez do plasma após centrifugação (figura 10.1):

Mantendo-se límpido o plasma do animal teste, repetir a prova com administração conjunta de pancreatina (composto enzimático pancreático com lipase).

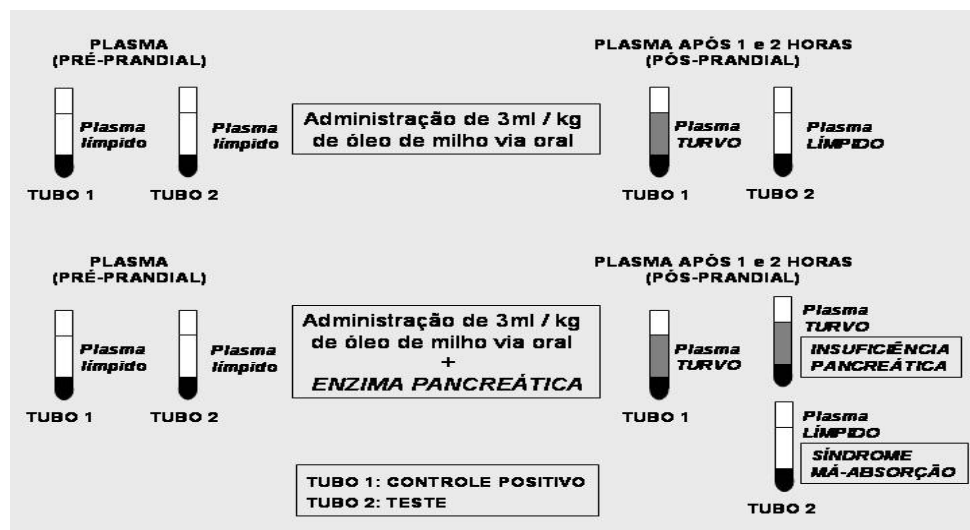


FIGURA 10.1. Esquema ilustrativo da prova do óleo de milho.

Prova do filme de raios-X

Avalia a presença de tripsina. Deve ser feito em três amostras: uma sem fezes, outra com fezes de animal sadio e outra de fezes teste. Acompanhe a seguir:

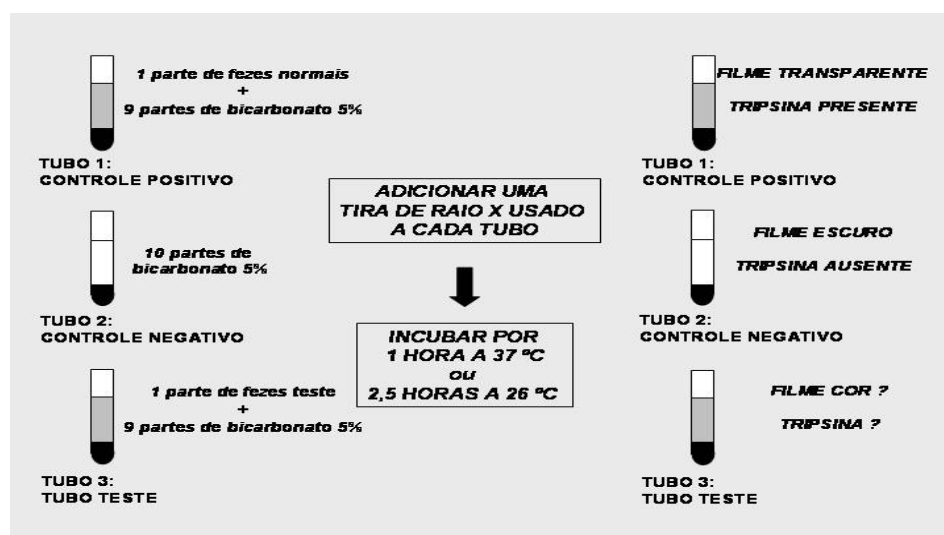


FIGURA 10.2. Esquema ilustrativo da prova dos Raios-X.

Prova da gelatina

Avalia a presença de tripsina. Deve ser feito em três amostras: uma sem fezes, outra com fezes de animal sadio e outra de fezes teste, conforme figura 10.3:

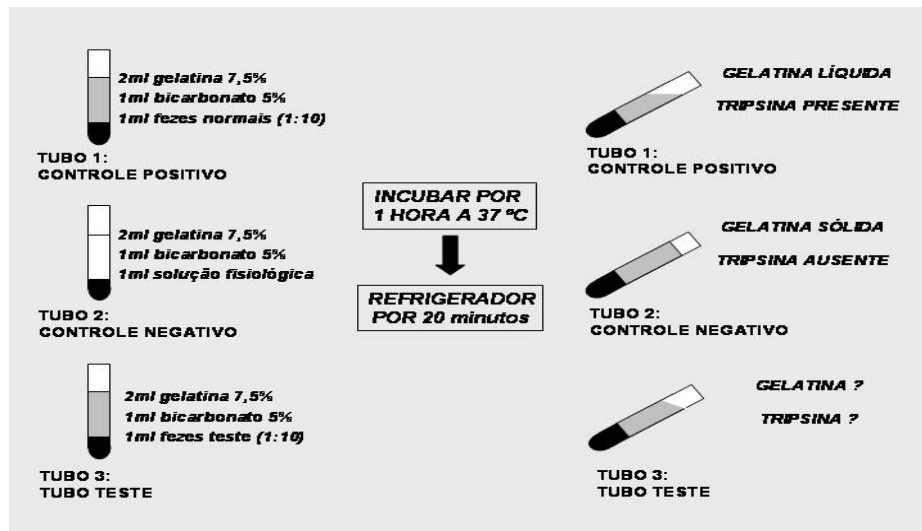


FIGURA 10.3. Esquema ilustrativo da prova da gelatina.

MÓDULO 3: CITOLOGIA

PARTE 11: DERRAMES CAVITÁRIOS

11. 1. Fisiologia dos líquidos corpóreos

O volume de água corporal nos animais corresponde a cerca de 65% do peso total. Esta percentagem está mais relacionada com a massa dos tecidos magros; os animais magros possuem maior percentagem de água que os obesos. A distribuição do volume de água não é eqüitativa porque os tecidos e órgãos do corpo contêm quantidades diferentes e características de água. Esta distribuição desigual de água é divisível em dois compartimentos – o líquido extracelular e o líquido intracelular. O líquido extracelular corresponde aproximadamente 24% do volume de líquido total e inclui o plasma (4%), o líquido tissular ou intersticial (15%) e o líquido transcelular (5%). O líquido transcelular é aquele que ocorre nas cavidades corporais, nas vísceras ocas, nos olhos e nos produtos de secreção das várias glândulas.

O plasma ou a fase intercelular líquida do sangue contém numerosos e variados cristalóides, assim como proteínas plasmáticas. Os cristalóides não deixam o sangue em quantidades significativas sob condições normais; apenas a água e os cristalóides têm livre acesso aos tecidos conjuntivos. O líquido tissular, portanto, é o plasma desprovido da maioria de suas proteínas características. O líquido tissular que ganha acesso aos capilares linfáticos é chamado de linfa. A linfa não contém quantidades significativas de proteínas, mas as proteínas plasmáticas que adentram o interstício retornam indiretamente para a circulação geral pelos vasos linfáticos.

Os metabólitos e o oxigênio devem atravessar o líquido tissular antes de atingir as células. Os produtos residuais do metabolismo atravessam o líquido tissular e são transportados no sangue para os seus locais adequados de excreção (rins) ou troca (pulmões). As substâncias dissolvidas no sangue se movem a favor do seu gradiente de concentração (difusão) de forma aleatória, para fora ou para dentro do compartimento vascular através das fenestras das células endoteliais. A permeabilidade seletiva da célula endotelial impede, exceto por uma pequena quantidade, o transporte de macromoléculas (proteínas) por meio desta barreira.

O movimento do fluido e de substâncias é governado pelas relações entre a pressão hidrostática e oncótica que regulam o delicado equilíbrio líquido do organismo. A pressão hidrostática no interior dos capilares move continuamente o líquido e as substâncias nele dissolvidas para o tecido conjuntivo. A perda de líquido do espaço vascular poderia ser contínua, se a pressão oncótica das proteínas plasmáticas do leito vascular não recuperasse os líquidos do espaço intersticial de volta para o espaço intracapilar.

O movimento e a distribuição de fluidos no organismo depende do balanço de quatro fatores, que governam a direção e quantidade de líquidos que são movidos e/ou mantidos nos vários locais, esses fatores são: a pressão hidrostática do capilar, a pressão hidrostática intersticial, a pressão coloidosmótica do capilar e a pressão coloidosmótica intersticial (tabela 11.1).

TABELA 11. 1. Pressões arteriolar e venular do cão

Pressão (mmHg)	Arteriolar	Venular
Hidrostática do plasma	30	17
Hidrostática do tecido	8	8
Oncótica do plasma	25	25
Oncótica do tecido	10	10

Pressão de filtração: $(30 - 8) - (25 - 10) = 7\text{mmHg}$; Pressão de reabsorção: $(17 - 8) - (25 - 10) = -6\text{mmHg}$

A pressão hidrostática capilar é iniciada e mantida pela força mecânica do coração. Embora a pressão hidrostática capilar caia aprecialmente no lado arterial dos capilares para 30mmHg, esta pressão excede a pressão hidrostática intersticial, que é de 8mmHg. As proteínas plasmáticas, principalmente a albumina, contribuem para a pressão coloidosmótica

do sangue. Esta é de aproximadamente de 25mmHg no lado arterial do leito capilar; a pressão coloidosmótica do líquido tissular é de aproximadamente 10mmHg. Deste modo, no leito capilar arterial há uma pressão resultante de 7mmHg, também chamada de pressão 0 de filtração, a favor do líquido para o tecido.

No lado venoso há uma queda na pressão hidrostática capilar para 17mmHg, sendo que as demais pressões mantêm-se aproximadamente nos mesmos valores. A pressão resultante desta vez ocorre a favor da entrada de líquido para o interior dos vasos, em torno de 6 mmHg, também chamada de pressão de reabsorção. A reabsorção movimenta, de volta para o leito vascular, cerca de 90% do líquido filtrado para o tecido conjuntivo. Os 10% restantes do líquido que não retorna para o leito vascular desequilibrariam essas correlações entre a filtração e a reabsorção, se fosse permitido a esse fluido a sua permanência no interstício. Para evitar este problema, o líquido e a pequena quantidade de proteínas, resultante desta diferença de 1mmHg entre a filtração e a reabsorção, são devolvidos para a circulação geral por meio dos vasos linfáticos.

11. 2. Alterações nas trocas de fluidos

Numerosos fatores podem influenciar e alterar o delicado equilíbrio que existe entre os componentes líquidos dos compartimentos do sistema vascular, do sistema linfático e do tecido conjuntivo. Alterações como ingestão excessiva ou inadequada de água, desequilíbrio eletrolítico, deficiência de proteínas, processos inflamatórios e doenças sistêmicas podem se manifestar na troca de uma perturbação generalizada do equilíbrio fluido.

O edema é a retenção e o subsequente acúmulo de líquido tissular, resultante da transformação da pressão hidrostática intersticial em positiva. As condições edematosas sistêmicas e/ou regionais não ocorrem facilmente. Como manifestação clínica, o edema geralmente é resultado de sérios processos patológicos.

Dois mecanismos específicos proporcionam uma margem de segurança para o acúmulo de fluidos. A substância fundamental, representada pela propriedade intrínseca de absorção do tecido conjuntivo, pode absorver cerca de 30% de líquido além do seu conteúdo normal. O mecanismo de fluxo linfático proporciona uma margem de segurança adicional. Este fluxo é influenciada pela pressão hidrostática intersticial negativa, pelo bombeamento dos capilares linfáticos e pelo mecanismo de arrastamento de proteínas intersticiais pela água. O sistema de fluxo linfático gera um mecanismo que requer um aumento de 70% da pressão hidrostática capilar antes que o edema seja observado. Ainda é necessário que haja uma redução aproximada de 70% da pressão coloidosmótica do capilar antes que seja atingida uma condição edematosa.

Apesar destes fatores de segurança, o edema ocorre. Quatro mecanismos básicos provocam a formação excessiva de líquido tissular:

A. Obstrução linfática

A obstrução linfática influencia este processo em duas vias. Inicialmente a obstrução linfática impede o retorno do líquido tissular para a circulação, resultando no aumento gradual e contínuo de líquidos no tecido conjuntivo. Isto aumenta a pressão hidrostática do líquido tissular. Ocorre também uma acumulação progressiva de proteínas no tecido conjuntivo. As proteínas elevam a pressão coloidosmótica do tecido conjuntivo, resultando numa tendência para atrair e reter mais água. As causas podem incluir linfangite e linfadenoma, tumores e/ou metástases, abscessos e extirpação cirúrgica de cadeia linfática.

B. Aumento da permeabilidade capilar

Elevação da permeabilidade capilar resulta no vazamento de plasma para o compartimento do tecido conjuntivo. A elevada pressão coloidosmótica intersticial devido ao excesso de proteínas no tecido conjuntivo provoca o aumento da quantidade de líquido tissular. O fato mais significativo é a diminuição da capacidade do sangue para atrair a água de volta para os capilares. As causas podem ser processos inflamatórios, reações alérgicas, substâncias tóxicas e venenos e queimaduras.

C. Diminuição da pressão oncótica capilar

A baixa da pressão coloidosmótica está associada à baixa concentração de proteínas plasmáticas. Este tipo de deficiência resulta na diminuição da habilidade do sangue de remover fluidos do tecido conjuntivo. A hipoproteïnemia pode ser resultado de distúrbios hepáticos,

perda excessiva de proteínas na urina (distúrbios renais), desnutrição protéica, perda excessiva de proteínas pelo tubo digestivo e parasitismo.

D. Aumento da pressão hidrostática capilar

A obstrução venosa resulta na elevação da pressão hidrostática capilar. Quando a pressão hidrostática excede a pressão coloidosmótica capilar, os líquidos são retidos no tecido conjuntivo. A elevação da pressão hidrostática capilar pode resultar de insuficiência cardíaca congestiva ou estase portal, inflamação ou obstrução dos vasos, compressão com bloqueio dos vasos por tumores ou nódulos, aumento da resistência pulmonar e colocação apertada de bandagens.

11. 3. Classificação dos derrames cavitários

Os derrames cavitários são denominados de acordo com o local de formação (tabela 11.2) e classificados conforme o tipo de líquido (características físicas, químicas e citológicas) em transudato puro, transudato modificado e exsudato.

A. Transudato puro

Características: límpidos e incolores (cães e gatos), amarelados (herbívoros), pequena quantidade de proteína total ($<2,5\text{g/dL}$), poucas células nucleadas ($\text{CTCN} < 1.500/\mu\text{L}$), pH alcalino, densidade (<1.017), células predominantes: mesoteliais, poucos linfócitos e neutrófilos íntegros e raros macrófagos e hemácias.

Causas: diminuição da concentração das proteínas plasmática, ou seja, diminuição da pressão coloidosmótica na nefropatia, hepatopatia crônica, enteropatia e deficiência nutricional.

TABELA 11.2. Nomenclatura dos líquidos cavitários de acordo com o local de formação

Cavidade abdominal	Hidropertônio ou ascite
Cavidade pleural ou torácica	Hidrotórax
Pericárdio	Hidroperticárdio
Cavidade articular	Hidroartrose
Bolsa escrotal	Hidrocele
Espaço subaracnóide nervoso	Hidrocéfalo, líquido ou líquido céfalorraquidiano
Tecido conjuntivo	Edema

B. Transudato modificado

A citologia do transudato modificado depende da sua origem, mas geralmente apresenta neutrófilos não degenerados em pequena quantidade, células mesoteliais reativas, pequenas quantidades de linfócitos e macrófagos, poucas hemácias. Pode ser denominado de acordo com o local de formação (tabela 11.3).

Características: leve a moderadamente turvo, quantidade de proteína total moderada ($2,5$ a $7,0\text{g/dL}$), baixa a moderada celularidade ($\text{CTCN } 1.000\text{--}7.000/\mu\text{L}$), células predominantes: mesoteliais, poucos linfócitos e neutrófilos íntegros, macrófagos e hemácias.

Causas: aumento da pressão hidrostática capilar: estase venosa portal, ruptura de bexiga, ureter e uretra, insuficiência cardíaca, ruptura do ducto biliar, neoplasias, hemorragias intracavitárias, bloqueio das veias que drenam os tecidos, torção pulmonar. Bloqueio do sistema linfático: massas, tumores e outros.

QUADRO 11.3. Nomenclatura dos transudatos modificados de acordo com o local de formação

Cavidade abdominal	Hemoperitônio, uroperitônio, quiloperitônio
Cavidade pleural ou torácica	Hemotórax, quilotórax
Pericárdio	Hemopericárdio
Cavidade articular	Hemartrose
Bolsa escrotal	Hemocele

Características de alguns fluidos especiais (Transudato modificado)

Efusão Quilosa: formada pelo extravasamento de linfa, cor creme (branca) ou rosada devido a presença de hemácias, proteína total $2,0$ a $6,5\text{g/dL}$, células nucleadas: 1.000 a $17.000/\mu\text{L}$,

células predominantes: linfócitos, podendo estar presentes neutrófilos e macrófagos, concentração de triglicerídeos no fluido maior que no soro, concentração de colesterol do fluido menor que no soro.

Peritonite Infeciosa Felina (PIF): aguda: pouco quimiotactante - fluido com poucas células, alta proteína, incolor, viscoso, neutrófilos degenerados, macrófagos, plasmócitos, céls. mesoteliais e linfócitos; crônica: menor quantidade de neutrófilos, maior de outras células

Peritonite Biliar: ruptura da vesícula ou ducto biliar, amarelo - alaranjado, PT e CTCN moderada a alta, pigmento biliar em macrófagos, concentração de bilirrubina do fluido maior do que no soro.

C. Exsudato

O exsudato possui formação ativa e origem inflamatória, com presença de substâncias vasoativas e quimiotáticas, que aumentam respectivamente o conteúdo de proteínas e células do líquido que são as substâncias vasoativas - aumento da permeabilidade vascular (↑ proteína), e substâncias quimiotactantes - aumento de células.

Características: turvos, cor: branca, rosa, âmbar, vermelha, etc, proteína total (>3,0g/dL), densidade (>1020), pH ácido, células nucleadas (CTCN>7.000/μL), geralmente coagulam, citologia: predominância de neutrófilos, macrófagos e células mesoteliais; bactérias podem estar presentes. Exsudatos podem ser divididos em:

A - Sépticos: agentes bacterianos, fúngicos, etc.

B - Assépticos: uroperitônio, peritonite biliar, pancreatite necrótica e neoplasias.

TABELA 11.4. Classificação dos derrames cavitários

Parâmetro	Transudato	Trans. Modificado	Exsudato
PT (g/dL)	< 2,5	2,5 - 7,5	> 3,0
CTCN / μL	< 1.500	1.000 - 7.000	> 7.000
Densidade	< 1017	1017 - 1025	> 1025
Bactérias	ausentes	ausentes	variável
Células Predominantes	Mononucleares Mesoteliais	Linfócitos Monócitos Mesoteliais Hemácias	Neutrófilos Macrófagos Mesoteliais

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 11: exame de líquido abdominal

11. 4. Abdominocentese

A Abdominocentese é um exame clínico complementar, de grande valia para estabelecimento de um diagnóstico. Porém, assim como outros exames, não deve ser executada sem prévio exame clínico completo, pois o insucesso em uma colheita não significa ausência de anormalidades, e, ao contrário, pode ser um sinal para a realização de outros exames clínicos complementares.

Por se tratar de um exame relativamente fácil de ser efetuado, o clínico veterinário deve se habituar à sua realização e ter sempre à mão os equipamentos necessários à colheita e acondicionamento do conteúdo abdominal, para encaminhamento laboratorial.

Por meio de uma abdominocentese é possível diagnosticar vários tipos de alterações do líquido abdominal, podendo ser de origem traumática (sangue, conteúdos digestivos, urina), infecciosa (conteúdo purulento), inflamatória (fibrina), entre outras. Este exame é mais comumente utilizado para confirmação do diagnóstico de peritonite, contribuindo também para o estabelecimento do prognóstico. Para a execução de uma abdominocentese, é necessário que se tenha uma boa contenção do animal pois o local de eleição para a colheita é a região xifóide, podendo ocorrer acidentes tanto para o veterinário e seus auxiliares, quanto para o animal.

Pequenos animais

A paracentese abdominal em pequenos animais com propósito diagnóstico tem sido muito utilizada, e possui uma taxa de sucesso em torno de 50%. Frequentemente a agulha entope com o contato de vísceras ou omento. Assim, somente grandes volumes de fluido abdominal (5 a 7mL) podem ser detectados por este método. Para otimizar este meio diagnóstico, é utilizado a diálise ou lavagem abdominal com auxílio de um cateter especial. Com esta técnica, o índice de sucesso em detectar o fluido aumenta para em torno de 80%, podendo detectar volumes de 1,0mL/kg PV. Além do aumento de volume de trabalho, o cateter tem vantagem na retirada do líquido porque possui calibre maior, e com fenestrações laterais na porção final.

A parede abdominal do paciente deve ser tricotomizada, e pode ser aplicado anestésico local. Com o paciente em decúbito dorsal, realiza-se uma incisão na linha alba com auxílio de bisturi, caudalmente ao umbigo uns 2 a 3cm, aproximadamente. O cateter é então introduzido através da parede abdominal, na direção caudal, utilizando-se uma seringa de 20mL para retirada do material. Se não for obtido aspirado com este procedimento, 22 mL/kg de solução fisiológica pode ser infundido para o abdome. O paciente pode ser levemente movimentado para os decúbitos laterais para que o fluido se disperse. O lavado final é colhido por drenagem gravitacional, não sendo necessário a colheita do total de líquido infundido.

Grandes animais

Deve-se ter em mente que os bovinos tem uma capacidade muito acentuada de restringir processos inflamatórios a nível abdominal, levando, na maioria das vezes, a quadros circunscritos de peritonite, dificultando a colheita deste material. Ao contrário, nos eqüinos a peritonite tende a ser difusa, mas mesmo assim a grande deposição de fibrina pode “impedir” a saída de conteúdo representativo. Após a contenção, deve-se efetuar tricotomia ($\pm 20 \times 20$ cm) e após antisepsia do local, com tintura de iodo, iodo povidine ou outro desinfetante disponível. Pode ser feita uma anestesia local ao redor da região, porém dependendo da índole do animal pode não ser preciso.

Durante a colheita, use sempre luvas cirúrgicas, pois além de proteção pessoal, este procedimento é invasivo e pode levar a uma infecção iatrogênica. Use também agulha e trocarter estéreis, pelo mesmo motivo. As agulhas devem ser longas e de calibre grosso (40x15 ou 40x20), podendo também ser usado trocarter ou mesmo uma sonda de teto (com ponta romba e aberturas laterais), sendo necessário neste caso a perfuração da pele por meio de um bisturi. Tenha em mãos uma seringa para sucção, pois muitas vezes só assim se recuperará algum conteúdo. Separe também pelo menos dois vidros pequenos identificados com etiqueta (um sem anticoagulante e outro com EDTA), para que se possa visualizar se ocorre ou não coagulação do conteúdo, e também para poder enviar o material ao laboratório (dentro de isopor com gelo). Se necessário, pode-se efetuar esfregaço em lâmina, dependendo do aspecto do conteúdo coletado. Não esquecer de referir o uso de antimicrobianos, caso o material seja enviado para cultivo.

O local exato de colheita deverá ser escolhido em função da observação do animal (por exemplo: pode haver irregularidades no aspecto do abdome, sugerindo presença de conteúdo abdominal). Geralmente a colheita é feita tomando-se como referência a cicatriz umbilical, adiantando-se 4 a 5 dedos e desviando-se para a direita 4 a 5 dedos. Nesta região as chances de sucesso na colheita são maiores (é a região mais baixa do abdome).

O sucesso da colheita ocorre quando se recupera o conteúdo abdominal. Porém sabe-se que nos bovinos e eqüinos sadios a quantidade de líquido existente é de apenas alguns mililitros, sendo, portanto muito frequente a ausência de líquido abdominal no ato da colheita, sem que isso seja considerado um insucesso.

11. 5. Atividade extra: colheita e análise do líquido

O exame do líquido céfalo-raquidiano é de especial importância nos casos de suspeita de patologias primárias ou secundárias ao sistema nervoso⁴.

Colheita do líquido

Finalidade do exame: Recurso complementar na avaliação do sistema nervoso central (SNC).

⁴ Verifique antes se o uso de animais para esta aula possui aprovação no Comitê de Ética da sua Instituição.

Indicações: A indicação da realização do exame do líquido cefalorraquidiano é dada principalmente pela evidência clínica sugerindo enfermidade do SNC. Além disso, possui valor diagnóstico no auxílio à clínica e anamnese, no prognóstico de determinadas enfermidades, e ainda como terapia em casos de aumento da pressão intra-craniana. evidência clínica de alterações no SNC, prognóstico, diagnóstico e monitoramento terapêutico, pesquisa do efeito de fármacos sobre o SNC e auxílio na monitoração radiográfica do SNC.

Riscos e contra-indicações: Como contra-indicações temos os animais que não possam ser anestesiados ou bem contidos, pois trata-se de colheita delicada. Em suspeita de aumento de pressão intracraniana, como edemas, traumas, hemorragias, neoplasias, deve-se ter muito cuidado com a descompressão repentina. A colheita do líquido é também contra-indicada quando houver infecção cutânea localizada à região de punção (contaminação), ou ainda em animais com desidratação severa (baixa pressão líquórica) ou distúrbios de coagulação (riscos de hemorragias).

Material necessário: Agulha hipodérmica - tamanho 25x7 ou 30x7 (cães), *agulha específica para punção líquórica, Agulha metálica com mandril - tamanho 80x10 a 100x10 (bovinos), anestésicos para a pré-anestesia e anestesia geral, material para tricotomia, álcool iodado, três frascos para o acondicionamento do líquido.

Locais de colheita: Região suboccipital (cisterna magna) ou lombossacra. Em cães e gatos deve-se posicionar o animal em decúbito lateral direito ou esquerdo estando o animal sob anestesia geral. Em bovinos e eqüinos pode-se proceder com leve sedação e decúbito lateral esquerdo. Os principais locais de colheita do líquido são a via lombar, no fundo de saco dural (entre as vértebras lombares L5 e L6 ou entre L6 e L7), via cisternal ou suboccipital na cisterna magna; via ventricular, mais rara, realizada nos ventrículos laterais.

Técnica de punção: Depois de realizada tricotomia e antissepsia local, introduzir a agulha no ponto médio entre as margens craniais das asas do atlas e a protuberância occipital externa (bovinos e cães).

1. Atingida a cisterna magna o líquido fluirá pela agulha e será acondicionado em três frascos separadamente. A quantidade de líquido colhida deverá ser aproximadamente de 1mL para cada 5Kg de peso vivo. Em grandes animais cerca de 5mL são suficientes para o exame. Remeter o material imediatamente ao laboratório.
2. A colheita do líquido deve ser realizada por profissional experiente, e após adequada sedação ou tranquilização do animal. Como em parte das vezes, principalmente em grandes animais, o animal em questão apresenta-se em decúbito e depressão, normalmente nestes casos uma boa contenção pode ser mais adequada que os riscos anestésicos.
3. O local de punção é medida importante e deve ser escolhido previamente segundo a espécie animal e a indicação clínica (tabela 11.5), ou seja, se a localização do processo patológico é raquiana, meningo-encefálica ou craniana. Colheitas em diferentes locais de punção podem fornecer diferentes amostras.
4. Os cuidados gerais envolvem o preparo do animal na sedação, se necessário, contenção, tricotomia local e antissepsia. O líquido deve ser colhido com agulha apropriada para a espécie e porte do animal, e a colheita realizada em três frascos identificados e numerados, se possível um deles com anticoagulante. Como a quantidade de líquido obtida é pequena e o risco de contaminação com sangue durante a colheita é alto, a colheita sequencial em três frascos minimiza estes riscos.
5. O líquido, por conter células e outras estruturas de rápida degeneração, deve ser processado imediatamente após a colheita, num período máximo em torno de trinta minutos.

TABELA 11.5. Locais de punção para colheita do líquido céfalo-raquidiano

Espécie	Local	Profundidade (volume máx)	Agulhas
Cão	Suboccipital / lombar	1 – 4cm (1mL/5kg PV)	30-50 x 7-8
Gato	Suboccipital	1 – 2cm (0,5 a 1,0mL)	30 x 6-7
Eqüinos	Suboccipital / lombar	5 – 7cm (5 a 7mL)	100 x 10-12
Bovinos	Suboccipital / lombar	5 – 7cm (5 a 7mL)	80-100 x 10-12

MÓDULO 4: HEMOTERAPIA

PARTE 12: TRANSFUSÃO EM CÃES E GATOS

12.1. Introdução

Desde os primeiros relatos de transfusões sangüíneas no século XVII, quando se transfundia sangue heterólogo na tentativa de se alterar o comportamento de quem o recebia, a medicina transfusional tem evoluído muito. Hoje as indicações para a transfusão de sangue total ou de um de seus componentes são a necessidade do restabelecimento da capacidade de transporte de oxigênio pelo sangue, deficiências na hemostasia, transferência de imunidade passiva e hipoproteïnemia, além da hipovolemia não responsiva ao tratamento convencional. Atualmente, a terapêutica transfusional com componentes específicos do sangue é preferida ao uso rotineiro de transfusão com sangue total. Esta atitude não apenas conserva os estoques de sangue, uma vez que, cada unidade doada pode beneficiar diversos pacientes, mas também permite que sejam transfundidas grandes quantidades de um determinado componente que o paciente necessite, diminuindo o risco de sobrecarga circulatória.

12.2. Tipos Sangüíneos

As hemácias possuem antígenos próprios (glicoproteínas ou glicolípídeos) na superfície da membrana celular que as classificam em grupos sangüíneos. A consequência destes antígenos na superfície das hemácias é a formação de anticorpos anti-hemácias no receptor contra hemácias do doador. Dependendo da espécie animal, esses anticorpos têm ocorrência natural (gatos) ou podem ser produzidos após sensibilização em transfusões anteriores (cães). A presença de anticorpos contra hemácias do doador pode causar reações transfusionais hemolíticas imuno-mediadas severas e até fatais, como acontece em gatos tipo B recebendo sangue tipo A; podem levar também a formação de anticorpos para um determinado tipo sangüíneo (no caso do cão); ou ainda acarretar uma perda da eficácia da transfusão sangüínea realizada, pela diminuição da sobrevivência das hemácias transfundidas.

Cães

Foram identificados vários tipos sangüíneos em cães. Estes compreendem os AEC (antígeno eritrocitário canino) 1 (1.1, 1.2, 1.3), 3, 4, 5, 6, 7, 8. Os tipos sangüíneos que têm o maior potencial antigênico são o AEC 1.1, 1.2 e 7. Transfusão de sangue tipo AEC 1.1 positivo em um paciente com AEC 1 negativo resulta na formação de aloanticorpos anti-AEC 1.1, diminuindo a sobrevivência das hemácias transfundidas. Além disso, uma segunda transfusão com AEC 1 positivo, resultará em reação transfusional hemolítica imuno-mediada aguda severa. Similar à incompatibilidade do AEC 1.1, a transfusão de AEC 1.2 em um cão negativo para AEC 1, mas que apresenta aloanticorpos contra AEC 1.2, causa uma diminuição da meia vida das hemácias transfundidas para 12 horas. Em contraste, cães que são negativos para AEC 7 podem possuir anticorpos naturais contra AEC 7, porém a sua importância é ainda discutida. Por essas razões o doador ideal seria o cão negativo para AEC 1.1, 1.2 e 7.

Gatos

Os gatos possuem apenas três grupos sangüíneos: A, B e AB, porém, possuem altos títulos de anticorpos naturais, sendo estes responsáveis por reações transfusionais hemolíticas severas na primeira transfusão ou em filhotes de fêmeas primíparas. A frequência dos tipos de sangue em gatos varia de acordo com a raça e localização geográfica, mas a maioria dos animais (>95%) são do tipo A. O tipo sangüíneo B tem uma prevalência de aproximadamente 5% da população total, porém essa incidência aumenta em animais de raça pura, sendo que na raça British shorthair há uma prevalência de 77%. A maioria dos gatos tipo B apresenta grande quantidade de anticorpos contra o sangue tipo A, sendo que uma transfusão de tipos sangüíneos diferentes nestes animais pode acarretar uma severa reação hemolítica aguda e irreversível. A meia-vida das hemácias transfundidas neste caso é de uma hora. Já nos gatos

tipo A recebendo sangue tipo B, a meia-vida dessas células é de dois dias, sendo a transfusão inefetiva. Gatos AB aparentemente, não possuem anticorpos contra os tipos sanguíneos A e B. É importante lembrar que com o aumento de gatos de raças a incidência de reações transfusionais imuno-mediadas nesta espécie tende a aumentar. Desta forma, a tipificação sanguínea e/ou a prova de reação cruzada constituem procedimentos indispensáveis antes de qualquer transfusão sanguínea nesta espécie.

12.3. Seleção dos Doadores

O doador canino ideal deve ter entre 2 e 8 anos de idade, peso acima de 28kg e ser AEC 1.1, 1.2 e 7 negativos. Cães pesando acima de 28kg podem doar 450mL de sangue a cada 3 semanas sem efeitos adversos ou necessidade de suplementação nutricional com ferro. Se estiverem recebendo suplementação nutricional podem doar 22mL/kg a cada 10 a 21 dias, o que hoje não é recomendado. O ideal é que a doação tenha intervalos de 3 a 4 meses. Os doadores podem ser machos e fêmeas castradas e/ou nulíparas. O sangue total e o plasma de animais que já estiveram prenhes ou que receberam transfusão sanguínea prévia não devem ser usados devido à possibilidade de exposição a hemácias estranhas e subsequente formação de aloanticorpos. Os cães doadores devem ser submetidos a exame clínico e hemograma antes de qualquer doação e anualmente deve ser realizado perfil bioquímico sérico e sorologias para *Brucella canis*, *Ehrlichia sp.*, *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Babesia sp.*, *Leishmania sp.*, dependendo da localização geográfica e da incidência destes microorganismos no local onde o cão vive.

Os doadores felinos devem ter entre 2 e 5 anos de idade, peso acima de 4kg, sendo preferível um peso entre 5 e 7kg, porém o animal não deve ser obeso. O volume sanguíneo máximo a ser colhido em felinos é de 11 a 15mL/kg a cada 21 dias. Entretanto esse volume representa uma maior porcentagem do volume sanguíneo total dos felinos em comparação com a porcentagem do volume sanguíneo total dos cães. Por esta razão, gatos podem desenvolver hipotensão durante ou logo após a doação de sangue. Quando for preciso sedar estes animais, deve-se escolher sedativos que minimizem a hipotensão. Outra medida que pode ser tomada é a administração de solução salina intravenosa, na dose de 2 a 3 vezes o volume sanguíneo colhido. Os doadores podem ser machos e fêmeas. Anualmente deve ser feito perfil bioquímico completo e devem ser testados para dirofilariose, micoplasmose, vírus da leucemia viral felina (FeLV) e vírus da imunodeficiência viral felina (FIV). Os gatos doadores devem ser regularmente vacinados contra rinotraqueíte, calicivírus, panleucopenia, clamídia e raiva, ou que sejam animais de vida restrita.

O comportamento dos doadores caninos e felinos é uma consideração importante, já que a escolha cuidadosa dos mesmos elimina a necessidade de tranquilização, diminuindo o tempo da colheita e a relutância dos proprietários em trazer os animais para serem doadores.

12.4. Colheita do sangue

Para a colheita e o armazenamento do sangue, devem ser utilizadas bolsas próprias contendo anticoagulantes, adicionados de fatores nutricionais ou preservativos para hemácias. Quando o volume é menor e o uso do sangue for imediato ou em um período de até 24 horas, o sangue também pode ser colhido em seringas heparinizadas.

Os anticoagulantes mais frequentemente utilizados são o citrato fosfato dextrose adenina (CPDA-1), o citrato ácido dextrose (ACD), citrato de sódio e a heparina. Apenas os dois primeiros (CPDA-1, ACD) contêm substâncias nutritivas para as hemácias, e, portanto, são os indicados quando se pretende estocar o sangue colhido. O sangue colhido com citrato de sódio ou heparina deve ser transfundido logo após a colheita.

Em cães e gatos o sangue pode ser colhido da veia jugular ou veia cefálica, sendo que nesta última o tempo de colheita pode ser maior. A veia jugular é preferida devido ao fácil acesso e a rapidez na colheita, porém a contenção do animal é mais trabalhosa. O local da punção para colheita de sangue deve ser preparado com tricotomia e antissepsia cirúrgica. Quando for necessário colher pequenos volumes de sangue de cães ou, principalmente de gatos, pode-se fazer uso de seringas estéreis com heparina ou CPDA-1, com uma proporção de 1 parte de anticoagulante para 9 partes de sangue. Porém, deve-se tomar cuidado com a quantidade total de heparina administrada ao paciente, pois esta pode resultar em deficiência de coagulação.

Após a punção e o estabelecimento do fluxo de sangue, a bolsa deve ser movimentada

suavemente com o objetivo de homogeneizar o sangue com o anticoagulante sem causar hemólise. Para facilitar o fluxo de sangue o garrote deve ser mantido e a bolsa de sangue ser posicionada em local mais baixo do que o doador. O tempo de colheita não deve ultrapassar 15 minutos, evitando-se assim estresse excessivo nestes animais. O recomendado é fazer o uso de uma balança para pesar a bolsa constantemente durante a colheita, sendo o peso ideal desta, 500g, com sangue e anticoagulante. Após a colheita e retirada da agulha deve ser feita compressão da veia durante aproximadamente 2 a 4 minutos, para evitar sangramento e formação de hematoma. É muito importante que na retirada da agulha não ocorra contaminação da bolsa com a entrada de ar através do equipo.

Para o armazenamento dos componentes sanguíneos deve-se usar freezer e geladeira exclusivos para o banco de sangue, com termômetro marcando temperatura máxima e mínima. Além disso, é importante respeitar os critérios de temperatura e período de armazenamento de cada componente. Antes de qualquer componente ser usado, é necessária a avaliação cuidadosa do material para detecção de qualquer alteração que comprometa a segurança ou a eficácia do produto durante e após a transfusão sanguínea, sendo que as unidades suspeitas devem ser descartadas.

12.5. Sangue Total e seus Componentes

O sangue fresco total é o sangue colhido há no máximo oito horas e que contém hemácias, leucócitos, plaquetas, todos os fatores de coagulação e proteínas plasmáticas. Ele pode ser utilizado diretamente para transfusões ou a partir dele podem ser separados todos os componentes sanguíneos, o que hoje é o mais indicado. O sangue total estocado é o sangue fresco total colhido com CPDA-1 ou ACD e armazenado à temperatura de 1° a 6°C. O CPDA-1 tem propriedades preservativas de hemácias melhores que o ACD, permitindo a estocagem do sangue por 28 até 35 dias. O sangue total estocado pode ser utilizado para fornecer hemácias, proteínas plasmáticas e fatores de coagulação estáveis. O sangue fresco total pode ser separado em *papa de hemácias* e *plasma* por centrifugação. Após a separação, a papa de hemácias deve ser colocada em temperaturas entre 1° e 6°C, o mais rápido possível. O sangue total e a papa de hemácias estocados por mais de 14 dias podem conter concentrações de amônia inaceitáveis para pacientes com doenças hepáticas severas, recomendando-se a utilização de sangue fresco para transfusão nestes pacientes.

O plasma fresco congelado é o plasma colhido, separado e armazenado a -18°C até 8 horas após a colheita. O congelamento rápido protege os fatores de coagulação lábeis V e VIII, e, portanto o plasma fresco congelado contém todos os fatores de coagulação, além de proteínas plasmáticas e imunoglobulinas (Igs). Já o plasma congelado provém de um sangue que não foi processado rapidamente (período superior a 8 horas). O plasma congelado conserva concentrações adequadas apenas dos fatores de coagulação dependentes de vitamina K (II, VII, IX, X), além de proteínas plasmáticas e Igs. O plasma fresco congelado e o plasma congelado mantêm suas características por um a dois anos, respectivamente, quando armazenados a -18°C. O plasma fresco congelado ainda pode ser processado em crioprecipitado e crioplasma pobre. O crioprecipitado é o precipitado obtido após o descongelamento parcial (a temperaturas entre 1° e 6°C) do plasma fresco congelado e contém uma alta concentração do fator de coagulação VIII, do fator de Von Willebrand e de fibrinogênio. Este componente deve ser mantido a -18°C, tendo assim validade de 1 ano após a colheita. Após a preparação do crioprecipitado, o produto restante é chamado de crioplasma pobre que é rico em albumina e imunoglobulinas e também pode ser armazenado por até 1 ano a -18°C. O concentrado de plaquetas pode ser obtido após centrifugação do plasma fresco. O concentrado de plaquetas deve ser conservado a temperaturas entre 20 e 24°C e sob movimentação constante durante, no máximo, 5 dias.

12.6. Cálculo do volume a ser transfundido

Sangue Total ou Papa de Hemácia

Em pequenos animais o objetivo da transfusão em pacientes com anemia é aumentar o hematócrito pós transfusional para 25 a 30% em cães e 15 a 20% em gatos. O volume de sangue a ser transfundido pode ser calculado através das fórmulas:

$$\text{Volume (mL)} = \frac{\text{Fator}^* \times \text{Peso do Paciente} \times (\text{Ht\% Pretendido} - \text{Ht\% Paciente})}{\text{Ht\% Doador}}$$

(*Fatores: 90 para cão e 70 para gato)

OU

$$\text{Volume (mL)} = \text{Peso do Paciente} \times (\text{Ht\% Pretendido} - \text{Ht\% Paciente}) \times 2,2^* \text{ ou } 1,1^{**}$$

(*Sangue Total, ** Papa de Hemácia), considerando o Ht% do Doador entre 40 e 45%

Plasma

A quantidade de plasma requerido para tratamento de hipoproteïnemia/hipoalbuminemia pode ser calculada através da fórmula descrita no quadro que segue abaixo. Porém, este tratamento é considerado uma solução emergencial, não dispensando o suporte nutricional ao paciente. Ainda, o volume aplicado seguindo-se a fórmula acima pode resultar em sobrecarga circulatória, uma vez que o líquido aplicado, devido a sua pressão coloidosmótica, sofre redistribuição para o leito extravascular. Em emergências ou quando o paciente não responde bem a diuréticos na diminuição do edema periférico pode-se fazer o uso de 10 – 15mL/kg do plasma, havendo em cães uma resposta imediata satisfatória. Cães que não ingeriram o colostro podem-se beneficiar com a aplicação de plasma para aumentar a imunidade passiva na dose de 6 a 10mL/kg em uma única aplicação.

Em pacientes com distúrbios hemostáticos, o objetivo é controlar o sangramento. O plasma fresco congelado e o plasma congelado são administrados em cães e gatos na dose de 6 a 10mL/kg, devendo ser repetido a cada 8 a 12 horas até o término do tratamento. O concentrado de plaquetas deve ser administrado na dose de 5mL/kg. Este volume aumenta a contagem plaquetária em 5.000 a 10.000 plaquetas/mm³.

$$\text{Volume (mL)} = \frac{\text{Volume plasmático do Receptor} \times (\text{PTP pretendida} - \text{PTP do receptor})}{\text{PTP do Doador}}$$

Volume Plasmático = Volemia x % Plasma no sangue x Peso; onde a Volemia = 90 em cães e 70 em gatos, e % Plasma no sangue = 0,6 cães e gatos. OBS: a mesma fórmula pode ser utilizada substituindo-se o valor da PTP (proteína total plasmática) pelo valor da albumina.

12.7. A Transfusão Sanguínea

Os componentes sanguíneos, não devem ser aquecidos de forma aleatória antes de serem transfundidos, pois o aquecimento incorreto e acima de 37°C acarreta destruição dos fatores de coagulação estáveis e lábeis, precipitação de fibrinogênio e de proteínas plasmáticas e destroem a habilidade das hemácias em recuperar a capacidade de carrear oxigênio, além de hemólise destas. A forma de aquecimento correta é o uso de aparelhos calibrados e apropriados para este fim ou manter o componente sanguíneo envolto por um saco plástico impermeável em banho-maria por no máximo 10 minutos a temperatura de 22°C. Lembrando que, como a velocidade inicial de infusão é muito lenta, isso se faz desnecessário.

Os componentes do sangue podem ser administrados em cães e gatos pela veia cefálica, veia safena ou veia jugular, além da via intraóssea, que pode ser utilizada em pacientes pequenos ou neonatos, ou ainda em pacientes com perfusão periférica deficiente. Para a infusão de qualquer componente sanguíneo (sangue total, papa de hemácias, plasmas), deve-se, obrigatoriamente, utilizar equipos próprios para transfusão, com filtro para remover coágulos e outros materiais particulados como os agregados plaquetários. Nunca usar juntamente com os componentes sanguíneos ou no mesmo cateter soluções contendo dextrose que causam aglomeração de hemácias e também soluções contendo cálcio como a solução de ringer com ou sem lactato, pois estas soluções levam a formação de coágulos decorrente da depleção do citrato. Só usar, quando necessário, solução fisiológica com componentes sanguíneos.

A transfusão sanguínea deve ser feita em um período máximo de 4 horas, pois períodos mais longos de exposição do componente sanguíneo a temperatura ambiente aumentam em até

70% o risco de contaminação bacteriana da bolsa exposta, além de perda funcional dos elementos sangüíneos. Em cães e gatos a velocidade de administração deve ser muito lenta nos primeiros 30 minutos (0,25 a 0,50mL/kg). Caso o paciente não apresente nenhuma reação, pode-se aumentar a velocidade para 4 a 5mL/kg/hora, se o animal estiver desidratado até 10 a 15mL/kg/hora. Em animais cardiopatas ou nefropatas deve-se respeitar a velocidade de 1 a 2mL/kg/hora. Já em hemorragias severas a velocidade de infusão pode chegar a 22mL/kg/hora.

12.8. Reações Transfusionais

A severidade da maioria das reações transfusionais é dose-dependente e seu reconhecimento precoce pode evitar maiores complicações. Assim, o paciente deve ser cuidadosamente monitorado, principalmente nos primeiros 30 minutos da transfusão. Quando se suspeitar de reações adversas, a transfusão deve ser interrompida imediatamente (por, no mínimo, 10 a 15 minutos) e o paciente avaliado. Deve-se verificar se a velocidade usada está correta.

Sinais de febre leve ou de hipersensibilidade tipo I geralmente desaparecem e a transfusão pode ser reiniciada lentamente. Em cães, as reações de hipersensibilidade leves a moderadas (prurido, eritema e urticária) costumam responder bem a Difenidramina ou Prometazina e Hidrocortisona ou Succinato de Prednisolona. A transfusão pode ser retomada em ritmo mais lento 15 a 30 minutos, após melhora do quadro clínico.

Sinais de hemólise ou febre alta indicam, principalmente, reação hemolítica imuno-mediada aguda ou contaminação bacteriana. Nestes casos, deve-se interromper a transfusão imediatamente, enviar a bolsa de sangue para cultura bacteriológica e avaliar a função renal do paciente e tratá-lo para choque, com fluidoterapia intensiva. A reação hemolítica imuno-mediada aguda é a reação transfusional mais severa com alta taxa de mortalidade (em gatos 100%), sendo que para diminuir o risco deve ser realizada a tipificação sanguínea e/ou a prova de reação cruzada antes de qualquer transfusão sanguínea.

Vários outros tipos de reações transfusionais podem ocorrer em cães e gatos, porém é importante lembrar que a transfusão sanguínea nada mais é que uma espécie de transplante, desta forma vale ressaltar que além de salvar vidas, a transfusão sanguínea feita de forma desnecessária e incorreta pode causar danos graves ao paciente veterinário.

Controle dos parâmetros clínicos do paciente recebendo Transfusão Sanguínea

Período Transfusão	Temperatura	Pulso/ FC	FR	Mucosas	TPC
Pré-transfusão					
Durante a transfusão (minutos)					
15, 30, 45, 60, 1,5h					
2h; 2,5h; 3h; 3,5; 4h					
Pós-transfusão (minutos)					
15, 30, 1h					
FC (frequência cardíaca), FR (frequência respiratória), Mucosas (coloração), TPC (tempo preenchimento capilar)					

12.9. Testes de compatibilidade

Para se verificar a compatibilidade entre plasma e hemácias de doadores e receptores, e identificar a presença de anticorpos pré-existentis responsáveis por hemólise ou hemoaglutinação utiliza-se à prova de reação cruzada ou prova de compatibilidade.

Esta prova tem como objetivo diminuir o risco de reações transfusionais hemolíticas imuno-mediadas, principalmente onde a tipificação sanguínea não é feita. Embora a ocorrência de reações transfusionais hemolíticas agudas nos cães em uma primeira transfusão seja rara, é recomendado que se faça a prova da reação cruzada antes de qualquer transfusão sanguínea, principalmente quando a indicação para esta transfusão são problemas imuno-mediados. Deve ser obrigatoriamente realizada em cães a partir da segunda transfusão e em gatos é imprescindível que se faça já na primeira transfusão, pois o gato tem anticorpos naturais, não necessitando de sensibilização prévia. É importante lembrar que em cães a prova de reação cruzada não evita a sensibilização aos grupos AEC 1.1 e 1.2, ela simplesmente indica que no presente momento não há anticorpos significantes contra as hemácias. Para prevenir a sensibilização, o sangue deve ser tipificado. A prova de reação cruzada não evita reações transfusionais de hipersensibilidade a outros antígenos como proteínas plasmáticas,

leucócitos e plaquetas.

A prova de reação cruzada é dividida em maior e menor. Na reação cruzada maior, as hemácias do doador são testadas com o plasma do receptor para verificar a presença de anticorpos no receptor contra as hemácias do doador. Esta prova é a mais importante, devendo ser sempre compatível, pois em uma reação incompatível todas as hemácias transfundidas serão destruídas. Já na prova menor testa-se as hemácias do receptor com o plasma do doador para verificar a existência de anticorpos no plasma do doador contra as hemácias do receptor. É usada concomitantemente com a anterior, principalmente na segunda transfusão, porém é menos importante quando se utiliza papa de hemácias, devido à pequena quantidade de plasma do doador no receptor (paciente). Porém, se a transfusão for de plasma ou sangue total é importante a realização da prova de reação cruzada.

A incompatibilidade manifesta-se por hemólise ou aglutinação, sendo que a aglutinação deve ser avaliada macro e microscopicamente.

ROTEIRO DE AULA PRÁTICA N. 12: compatibilidade sanguínea

12.10. Prova de Reação Cruzada (ou Prova de Compatibilidade Sanguínea)

1. Colher sangue em tubos com EDTA do Receptor (paciente) e dos possíveis Doadores ou separar amostras de sangue da bolsa de colheita;
2. Centrifugar (1000 x g por 5 minutos) para separar o plasma das hemácias (papa de hemácias);
3. Remover o Plasma de cada amostra com uma pipeta e transferir para um tubo limpo de vidro ou plástico identificado;
4. Lavar as hemácias 3 vezes com salina tamponada (centrifugar a 1000 x g por 5 minutos em cada lavagem e retirar a salina após cada centrifugação); após a última lavagem, retirar a salina restante;
5. Ressuspender as hemácias em uma solução de 3 a 5 % (5 gotas de papa de hemácias + ½ a 1 mL de NaCl tamponada);
6. Preparar para cada doador 4 tubos identificados com Prova Maior (A), Prova Menor (B), Controle do Receptor (C) e Controle do Doador (D) .
7. Adicionar em cada tubo 4 gotas (100µl) de plasma e 2 gotas (50µl) da suspensão de hemácias, como a seguir:

TUBO A – Prova Maior: Plasma de Receptor + Hemácias do Doador

TUBO B – Prova Menor: Plasma do Doador + Hemácias do Receptor

TUBO C – Controle do Receptor: Plasma do Receptor + Hemácias do Receptor

TUBO D – Controle do Doador: Plasma do Doador + Hemácia do Doador

8. Homogeneizar gentilmente e incubar por 15 minutos em temperatura ambiente e a 36C;
9. Centrifugar por 15 a 30 segundos a 1000 x g;
10. Examinar o sobrenadante para verificar Hemólise;
11. Ressuspender gentilmente o “botão” de hemácias para verificar aglutinação macroscópica;
12. Se aglutinação macroscópica não for observada, transferir uma pequena quantidade da amostra para uma lâmina e analisar através da microscopia a presença ou ausência de aglutinação;
13. Análise dos resultados:

Positivos → presença de hemólise e/ou aglutinação

Negativo → ausência de hemólise e/ou aglutinação ► **SANGUE COMPATÍVEL**

Sugestão para Ficha de Resultados da Prova de Reação Cruzada

Nome do Paciente (Receptor): _____ RG do Receptor: _____
_____ Espécie: _____ Idade: _____ Raça: _____
Sexo: _____

Dados do Doador (es):

Nome: _____ RG: _____ Idade: _____ Raça: _____ Sexo: _____

Nome: _____ RG: _____ Idade: _____ Raça: _____ Sexo: _____

Resultados:

	RC Maior	RC menor	Controle
Doador:	____ H ____ A	____ H ____ A	____ H ____ A
Doador:	____ H ____ A	____ H ____ A	____ H ____ A
Receptor (paciente)	X	X	____ H ____ A

RC = reação cruzada

PARTE 13. VALORES DE REFERÊNCIA

	Canino	Felino	Bovino	Equino	Ovino	Caprino	Suíno
Bioquímicos							
Ácido úrico (mg/dL)	0 – 2	0 – 1.0	0 – 2	0.9 – 1.1	0 – 1.9	0.3 – 1.0	0.5 – 1.95
Albumina (g/dL)	2.6 – 3.3	2.1 – 3.3	3.3 – 3.55	2.6 – 3.7	2.4 – 3.0	2.7 – 3.9	1.8 – 3.3
ALT (UI/L)	21 – 86	28 – 83	11 – 40	3 – 23	6 – 19	24 – 83	31 – 58
Amilase (UI/L)	185 – 700	75 – 150		75 – 150			
AST (UI/L)	6.2 – 13	6.7 – 11	20 – 34	58 – 94		43 – 132	8.2 – 21.6
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.1 – 0.5	0.15 – 0.50	0.01 – 0.5	1 – 2.0	0.1 – 0.5	0 – 0.1	0 – 10
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0.06 – 0.12		0.04 – 0.44	0 – 0.27			0 – 0.3
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0.01 – 0.49		0.03	0.2 – 2.0	0 – 0.12		0 – 0.3
Cálcio (mg/dL)	9.0 – 11.3	6.2 – 10.2	9.7 – 12.4	11.2 – 13.6	11.5 – 12.8	8.9 – 11.7	7.1 – 11.6
Colesterol (mg/dL)	40 – 78	40 – 86	80 – 120	75 – 150	52 – 76	80 – 130	36 – 54
CPK (U/L)	1.5 – 28.4	7.2 – 28.2	4.8 – 12.1	2.4 – 23.4	8.1 – 12.9	0.8 – 8.9	2.4 – 22.5
Creatinina (mg/dL)	0.5 – 1.5	0.8 – 1.8	1 – 2	1.2 – 1.9	1.2 – 1.9	1.0 – 1.8	1.0 – 2.7
Fosfatase Alcalina (UI/L)	20 – 156	25 – 93	0 – 488	143 – 395	68 – 387	93 – 387	118 – 395
Fósforo (mg/dL)	2.6 – 6.2	4.5 – 8.1	5.6 – 6.5	3.1 – 5.6	5.0 – 7.3	4.2 – 9.1	5.3 – 9.6
Gama GT (UI/L)	1.2 – 6.4	1.3 – 5.1	6.1 – 17.4	4.3 – 13.4	20 – 52	20 – 56	10 – 60
Glicose (mg/dL)	70 – 110	70 – 110	45 – 75	75 – 115	50 – 80	50 – 75	85 – 150
Globulinas (UI/L)	2.7 – 4.4	2.6 – 5.1	3.0 – 3.48	2.62 – 4.04	3.5 – 5.7	2.7 – 4.1	
Índice icterico (U)							
LDH (U/L)	45 – 233	63 – 273	692 – 1445	162 – 412	238 – 440	123 – 392	380 – 634
Lípase (U/L)	13 – 200	0 – 83					
Proteína Total (Soro) (g/dL)	5.4 – 7.1	5.4 – 7.8	6.7 – 7.4	5.2 – 7.9	6.0 – 7.9	6.4 – 7.0	7.9 – 8.9
Ureia (mg/dL)	21.4 – 59.92	42.8 – 64.2	42.8 – 64.2	21.4 – 51.36	17.12 – 42.8	21.4 – 42.8	21.4 – 64.2
Eletrolitos							
Bicarbonato (mmol/L)	18 – 24	17 – 21	17 – 29	20 – 28	20 – 25		18 – 27
Cálcio (mmol/L)	2.25 – 2.83	1.55 – 2.55	2.43 – 3.10	2.80 – 3.40	2.88 – 3.20	2.23 – 2.93	1.78 – 2.90
Cloreto (mmol/L)	105 – 115	117 – 123	97 – 111	99 – 109	95 – 103	99 – 110.3	94 – 106
Fósforo (mmol/L)	0.48 – 2.0	1.45 – 2.62	1.81 – 2.10	1.0 – 1.81	1.62 – 2.36		1.71 – 3.10
Magnésio (mmol/L)	0.74 – 0.99		0.74 – 0.95	0.90 – 1.15	0.90 – 0.31	0.31 – 1.48	1.11 – 1.52
Oxigênio (mmHg)	85 – 100	75 – 100					
pH sangue	7.31 – 7.42	7.24 – 7.40	7.31 – 7.53	7.32 – 7.44	7.32 – 7.54		
Potássio (mmol/L)	4.37 – 5.35	4.0 – 4.5	3.9 – 5.8	2.4 – 4.7	3.9 – 5.4	3.5 – 6.7	4.4 – 6.7
Sódio (mmol/L)	141 – 152	147 – 156	132 – 152	132 – 146	139 – 152	142 – 155	135 – 150

Fonte: Clinical Biochemistry of Domestic Animals

	Canino	Felino	Bovino	Equino	Ovino	Caprino	Suíno
Eritrograma							
Eritrócitos ($\times 10^6$)	5.5 – 8.5	5.0 – 10.0	5.0 – 10.0	6.8 – 12.9	9.0 – 15.0	8.0 – 18.0	5.0 – 18.0
Hemoglobina (g/dL)	12.0 – 18.0	8.0 – 15.0	8.0 – 15.0	11.0 – 19.0	9.0 – 15.0	8.0 – 12.0	10.0 – 16.0
VG (%)	37 – 55	24 – 45	24 – 46	32 – 53	27 – 45	22 – 38	32 – 50
HGM (pg)	19 – 23	13 – 17	11 – 17	10 – 20	8 – 12	5.2 – 8.0	17 – 21
VGM (fl)	60 – 77	39 – 55	40 – 60	37 – 58	28 – 40	16 – 25	50 – 68
CHGM (%)	32 – 36	31 – 35	30 – 36	31 – 36	31 – 34	30 – 36	30 – 34
Leucograma							
Leucócitos Totais	6.000 – 17.000	5.500 – 19.500	4.000 – 12.000	5.400 – 14.500	4.000 – 12.000	4.000 – 13.000	11.000 – 12.000
Bastonetes ($\mu\text{L}/\%$)	0 – 300 0 – 3	0 – 300 0 – 3	0 – 120 0 – 2	0 – 100	raros	raros	0 – 800 0 – 4
Neutrófilos ($\mu\text{L}/\%$)	3.000 – 11.500 60 – 77	2.500 – 12.500 35 – 75	600 – 4.000 15 – 45	2.260 – 8.580	700 – 6.000 10 – 50	1.200 – 7.200 30 – 48	3.200 – 10.000 28 – 47
Linfócitos ($\mu\text{L}/\%$)	1.000 – 4.800 12 – 30	1.500 – 7.000 25 – 55	2.500 – 7.500 45 – 75	1.500 – 7.700	2.000 – 9.000 40 – 75	2.000 – 9.000 50 – 70	4.500 – 13.000 39 – 62
Eosinófilos ($\mu\text{L}/\%$)	150 – 1.250 2 – 10	0 – 1.500 2 – 12	0 – 2.400 2 – 20	0 – 1.000	0 – 1.000 0 – 10	50 – 650 1 – 8	50 – 2.000 1 – 11
Monócitos ($\mu\text{L}/\%$)	150 – 1.350 3 – 10	0 – 850 1 – 4	25 – 840 2 – 7	0 – 1.000	0 – 750 0 – 6	0 – 550 0 – 4	250 – 2.000 2 – 10
Basófilos ($\mu\text{L}/\%$)	raros	raros	0 – 200 0 – 2	0 – 290	0 – 300 0 – 3	0 – 120 0 – 2	0 – 400 0 – 2
Fibrinogênio Plasmático (mg/dL)	200 – 400	50 – 300	300 – 700	100 – 400	100 – 500	100 – 400	100 – 500
Proteína Total (g/dL)	6.0 – 8.0	6.0 – 8.0	7.0 – 8.5	5.8 – 8.7	6.0 – 7.5	6.0 – 7.5	6.0 – 8.0
Plaquetas ($\times 10^3$)	200 – 500	300 – 800	100 – 800	100 – 350	300 – 600	300 – 600	100 – 900
Reticulócitos (%)	0 – 1.5	0 – 0.4 (Ag) 1.4 – 10.8 (P)					

Fonte: SCHALM's Veterinary Hematology (2000).

PARTE 14. BIBLIOGRAFIA

- BISTNER, S.I., FORD, R.B. Terapia com componentes sanguíneos, In: **Manual de Procedimentos Veterinários e Tratamento de Emergências**. 6. ed. São Paulo: Roca, 1996. p. 535-546.
- COLES, E.H. **Veterinary pathology**. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. 486 p.
- COUTO, C.G. Anemia In: NELSON, R.W., COUTO, C.G. **Small Animal Internal Medicine**. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 1998. p. 1160-1173.
- CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 454 p.
- DUNCAN, J.R., PRASSE, K.W., MAHAFFEY, E. **Veterinary laboratory medicine**. 4th ed. Iowa: Ames, 2003. 450 p.
- FELDMAN, B.F., SINK, C.A. Practical Transfusion Medicine for the Small Animal Practitioner. In: _____. **Practical Transfusion Medicine for the Small Animal Practitioner**. Jackson: Teton NewMedia, 2006, p. 1-111.
- FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. 1344 p.
- HARRELL, K., PARROW, J., KRISTENSEN, A. Canine transfusion reactions - Part II: Prevention and treatment. **Comp Contin Educ Pract Vet**, v.19, n.2, p.193-199, 1997.
- _____. Canine transfusion reactions. Part I: Causes and consequences. **Comp Contin Educ Pract Vet**, v.19, n.2, p.181-190, 1997.
- HOSKINS, J.D. **Pharmacologic Principles**. In: _____. Geriatrics & Gerontology of the dog and cat. 2nd ed., Missouri: Saunders, 2004. p.415.
- HOWARD, A. et al. Transfusion practices and costs in dogs. **J Am Vet Med Assoc**, v.201, n.11, p.1697-1701, 1992.
- HUMPHRIES, J.E. Transfusion therapy in acquired coagulopathies. **Hematol Oncol Clin North Am**, v.8, n.6, p.1181-1196, 1994.
- HUNT, E., MOORE, J.S. Use of blood and blood products. **Vet Clin North Am Food Anim Pract**, v.6, n.1, p.133-147, 1990.
- JAIN, C.N. **Essential of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 417 p.
- _____. **Schalm's veterinary hematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221 p.
- KANEKO, J.J., HARVEY, D.W., BRUSS, W.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
- KRISTENSEN, A.T., FELDMAN, B.F. Transfusion medicine. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v.25, n.6, p.1231-1487, 1995.
- LUNDBERG, G.D. Practice parameter for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and platelets. **J Am Med Assoc**, v.271, n.10, p.777-781, 1994.
- MEYER, D.J., COLES, E., RICH, L.J. **Veterinary laboratory medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992. 350 p.
- MEYER, D.J., HARVEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine**. 2nd ed. Philadelphia: W.B.

Saunders, 1998. 372 p.

MILLER, S.A. et al. Case-control study of blood type, breed, sex, and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. **J Am Vet Med Assoc**, v.2, n.224, p. 232-235, 2004.

NOVAIS, A.A. **Prevalência do grupo sanguíneo DEA 1 (subgrupos 1.1 e 1.2) em cães**. 1996. 49 f. *Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária)* – Universidade Estadual Paulista – Jaboticabal, 1996.

OSBORNE, C.A., FINCO, D.R. **Canine and feline nephrology and urology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. 960 p.

PEREIRA, P.M., REICHMANN, P. Transfusão de sangue e seus derivados. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 2. ed., São Paulo: Roca, 2002. p. 491-503.

PEREIRA, P.M., RAMALHO, F.S. Transfusão Sanguínea. **Clínica Veterinária**, v.34, n6, p. 34-39, 2001.

VILLIERS, E., BLACKWOOD, L. **BSAVA : Manual of Canine and Feline Clinical Pathology**. 2nd ed. Gloucester: BSAVA, 2005. 451 p.

WILLARD, M.D., TVEDTEN, H., TURNWALD, G.H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1989. 380 p.