

CORRELAÇÃO ENTRE FIBRINOGÊNIO E LEUCOMETRIA EM CÃES

CONTE, Leonardo Antonio¹
HOLSBACH, Vanessa Tharin Krzyonoski²
PRIMIERI, Cornelio³

RESUMO

O fibrinogênio e leucograma são biomarcadores de processos inflamatórios, sendo o fibrinogênio uma glicoproteína com função de coagulação e homeostase, já o leucograma indica a quantidade de leucócitos no organismo. O presente estudo consiste em uma análise retrospectiva quantitativa de 68 laudos hematológicos de cães de diferentes sexos, raças e idades. Realizou-se a comparação entre o número total de leucócitos e a dosagem de fibrinogênio desses animais a fim de analisar possível correlação desses parâmetros perante processos infecciosos. Através do método de dosagem de fibrinogênio e leucometria analisou-se a ocorrência de alteração conjunta do número total de leucócitos com a dosagem de fibrinogênio e também alteração prévia em fibrinogênio perante valores normais de leucograma para a espécie. Onde os resultados foram uma alteração prévia em fibrinogênio de 36,84% (7/19) dos casos com alteração acima da referência e também uma alteração em conjunto com o leucograma 63,16% (12/19) representando um processo inflamatório no paciente canino. Foi determinado que a dosagem de fibrinogênio seja de suma importância para auxiliar nos exames para a detecção de processos inflamatórios, porém em associação a leucometria.

PALAVRAS-CHAVE: fibrinogênio. leucograma. cães. processo inflamatório. laboratório clínico.

1. INTRODUÇÃO

O fibrinogênio e leucograma são biomarcadores de processos inflamatórios, sendo o fibrinogênio uma glicoproteína com função de coagulação e homeostase, já o leucograma indica a quantidade de leucócitos no organismo (KANEKO, HARVEY e BRUSS, 2008).

A medicina veterinária, na área de laboratório clínico utiliza a determinação de fibrinogênio plasmático e o leucograma afim de análises de processos inflamatórios. Entretanto, estes possuem uma ampla especificidade e sensibilidade perante a detecção de processos inflamatórios dentre as espécies animais (McSHERRY, HORNEY e DEGROOT, 1970; EK, 1972).

De acordo com Rubio e Schmidt (2014), a maioria das clínicas que prestam atendimento para cães possuem um entendimento de que a determinação de fibrinogênio não é capaz de diagnosticar processos inflamatórios. Sendo assim, na rotina clínica de grandes animais como equinos e bovinos é utilizado o fibrinogênio e para clínica de pequenos animais como os cães se tem como método de escolha o leucograma. No entanto, Andrews, Reagan e Denicola (1994), com um estudo em cavalos e Barcellos *et al* (2012), em cães, constataram uma hiperfibrinogenemia em animais sem alteração no leucograma.

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz. leo.conte@hotmail.com

² Médica Veterinária. Mestre em Ciência Animal (UEL). Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz. vanessa.holsbach@hotmail.com

³ Engenheiro Agrônomo. Mestre em energia na agricultura (UNIOESTE). Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz. primieri@fag.edu.br

O que corrobora com o descrito por Vecina, Patrício e Ciarlini (2006) onde alterações de fibrinogênio possuem uma precocidade perante alterações em leucograma para processos inflamatórios em cães.

Assim constitui-se como problemas de pesquisa: qual a relação da variação do fibrinogênio com a ocorrência de inflamação? E também se há uma variação relevante para diagnóstico definitivo? Visando responder aos problemas propostos, estipulou-se como objetivo da pesquisa analisar a eficácia do biomarcador de fibrinogênio em resposta a processos inflamatórios em cães na patologia clínica.

De modo específico, este estudo buscou: Correlacionar uma leucocitose com a dosagem do fibrinogênio; identificar a significância do fibrinogênio para o diagnóstico de processos inflamatórios; verificação da correlação de alterações entre fibrinogênio e leucograma; definir se há alteração do fibrinogênio antes mesmo de alterações no leucograma para processos inflamatórios; realizar hemograma automatizado; realizar dosagem de fibrinogênio.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 FIBRINOGENIO

O fígado é o órgão responsável pela produção de fibrinogênio, uma glicoproteína que possui função de coagulação e consequentemente homeostase. A dosagem dessa proteína plasmática pode ser feita através do método da precipitação por aquecimento, seu valor elevado pode indicar a presença de inflamação, infecção e neoplasia, resultando assim em um indicador de infecção aguda (KANEKO, HARVEY e BRUSS, 2008). Porém, a dosagem abaixo do valor de referência pode sugerir um processo de coagulopatia intravascular disseminada (MEYER, COLES e RICH, 2003).

Fatores como hemorragia, idade, exercícios e sexo do animal não interferem na concentração de fibrinogênio plasmático, porém em processos inflamatórios a concentração do mesmo se eleva entre o quinto e o sétimo dia (WEISS e WARDROP, 2010).

Tanto a dosagem de fibrinogênio quanto a contagem de leucócitos possuem ampla especificidade e sensibilidade para o diagnóstico da inflamação (McSHERRY, HORNEY e DEGROOT, 1970; EK, 1972). O teste não deve ser usado com saliente reflexo de infecção, mas combinado com a interpretação do leucograma (MEYER, COLES e RICH, 2003).

O estímulo inicial que aumenta a produção de proteínas reativas de fase aguda pelo fígado está ligado à produção de citocinas pelas células envolvidas no processo inflamatório, mais especificamente os componentes dos monócitos e macrófagos (DUKES, 2004). Dentre as citocinas, a interleucina-1 causa respostas sistêmicas como febre, neutrofilia, estimulação da liberação da corticotropina, ativação da produção de linfocinas (interleucina-2) e a estimulação da produção hepática das proteínas reativas de fase aguda, que são determinadas para resultar em um processo inflamatório subjacente (THOMAS, 2000).

A dosagem de fibrinogênio ainda é pouco requisitada na rotina de atendimento clínico de caninos e tem um destaque maior na clínica de grandes animais, servindo até mesmo como diagnóstico definitivo (BARCELLOS *et al*, 2012; ANDREWS, REAGAN e DENICOLA, 1994). Entretanto, segundo pesquisas, não deve-se utilizar única e exclusivamente a dosagem de fibrinogênio para diagnosticar a infecção, mas sim sempre correlaciona-la com a interpretação do leucograma (MEYER, COLES e RICH, 2003).

Segundo Meyer, Coles e Rich (2003) existe diferença na frequência de hiperfibrinogenemia e neutrofilia como indicativo de processos inflamatórios em diferentes espécies. Em carnívoros e marsupiais a neutrofilia é mais frequente do que a hiperfibrinogenemia como reflexo de uma inflamação, já nos perissodáctilos (equinos/ rinocerontes), proboscídeos (elefantes) e artiodáctilos (camelo) a hiperfibrinogenemia ocorre com maior frequência do que alterações no leucograma. Essa diferença relatada pelo autor corrobora com Tizard (2008), o qual descreve que em herbívoros o fibrinogênio é um indicador sensível de inflamação, podendo ser mais consistente do que o leucograma, e que em carnívoros o fibrinogênio apresenta-se como um indicador menos sensível.

2.2 LEUCÓCITOS

A leitura do esfregaço de sangue revela a existência de dois grupos diferentes de leucócitos, os granulócitos ou polimorfonucleares e os agranulócitos ou mononucleares. Os leucócitos granulócitos possuem grânulos no seu citoplasma e o núcleo da célula madura é lobulado, já os agranulócitos não possuem grânulos no citoplasma e o núcleo não se segmenta. O primeiro grupo é representado pelos neutrófilos, eosinófilos e basófilos, já os agranulócitos são os linfócitos e monócitos. Todas essas células desempenham uma importante função na defesa do organismo (TIZARD, 2008; MEYER, COLES e RICH, 2003).

A determinação do número de leucócitos é chamada de leucograma e pode ser realizada através da contagem manual ou automatizada (KANTEK, 2005). Quando o número total dessas células está

abaixo do valor de referência para a espécie o termo empregado é de leucopenia, já quando encontra-se acima do valor de referência emprega-se o termo leucocitose, sendo que esta pode ser de origem inflamatória ou fisiológica devido ao estresse. A diferença entre as duas formas é que na fisiológica não ocorre desvio à esquerda (JAIN, 1993).

O desvio a esquerda é caracterizado como um aumento de liberação de células no sangue periférico, o que caracteriza um problema severo ao animal devido ao fato dessa alteração ser proveniente de uma demanda imediata para manter em homeostase do sistema fisiológico do animal. Pode ocorrer desvio à esquerda regenerativo onde a contagem de neutrófilos imaturos é inferior aos neutrófilos maduros e desvio à esquerda degenerativo, quando a contagem de neutrófilos imaturos é superior aos neutrófilos maduros (DUKES, 2004).

Os neutrófilos maduros podem ser encontrados no compartimento circulante, compartimento marginal e na medula óssea (LUCIDI e TAKAHIRA, 2007), essas células agem identificando e fagocitando antígenos endógenos e exógenos, que são agentes estranhos ao organismo e desencadeiam processos infecciosos e inflamatórios (KANTEK, 2005).

Quando há súbita demanda de neutrófilos, ocorre a mobilização do compartimento da medula óssea, que pode corrigir a neutropenia em algumas horas, enquanto necessidades a longo prazo estimulam maior diferenciação das células precursoras em neutrófilos, os quais levam de quatro a seis dias para completar o processo de maturação (KERR, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAS

O presente trabalho foi realizado no laboratório veterinário Lotus, município pertencente ao estado do Paraná, no período de 02 a 12 de novembro de 2018. O estudo consistiu em uma análise retrospectiva quantitativa de 68 laudos prontos de leucograma os quais foram utilizados da rotina do laboratório veterinário, para com esses laudos, foram utilizados suas amostragens sanguíneas para realizar a dosagem de fibrinogênio em cães de diferentes sexos, raças e idades.

3.2 LEUCOGRAMA

A contagem no número total de leucócitos se deu através do analisador hematológico automático Fanem®, já a contagem diferencial dos leucócitos foi realizada pela técnica de esfregaço sanguíneo conforme a técnica descrita por Kerr (2003). Para coloração da lâmina utilizou-se o corante panótico (Newprov®).

3.3 DOSAGEM DE FIBRINOGENIO

Para obtenção do fibrinogênio utilizou-se a técnica onde o resultado para fibrinogênio se da pela subtração do resultado da primeira PPT analisada, conforme descrito por Kantek (2005). Com isso, foi realizada a coleta da amostra sanguínea em dois capilares, os quais foram centrifugados a 11.500 RPM por um período de cinco minutos na centrífuga de micro hematócrito, em seguida um capilar foi utilizado para a dosagem de proteínas plasmáticas totais (PPT), sendo observada sua precipitação no refratômetro. Já o outro capilar foi levado ao banho-maria em uma temperatura de 56°C por um período de três minutos, passado o tempo, foi levado novamente a centrífuga em uma rotação de 11.500 RPM por 5 minutos, em seguida observou-se novamente a proteína plasmática no refratômetro.

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

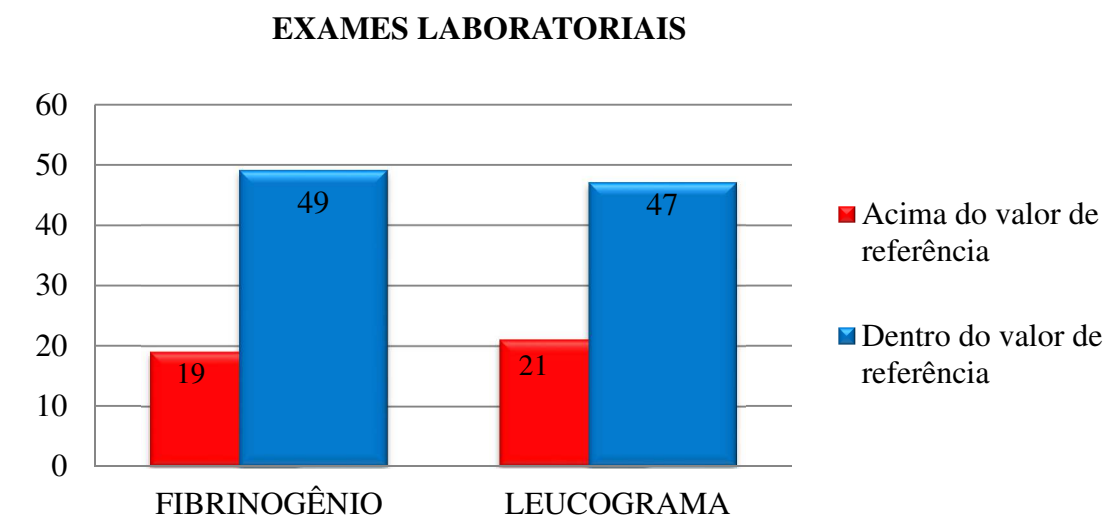
O resultado dos leucogramas foram inseridos em uma planilha demonstrando a ocorrência ou não de processo inflamatório. Com isso, realizou-se a determinação de fibrinogênio das mesmas amostras, para fins de comprovar se há ou não um aumento previo ou subsequente ao diagnóstico do leucograma para detecção de processo inflamatório. Ou seja, se o fibrinogênio é capaz de diagnosticar um processo inflamatório antes mesmo do resultado da leucometria ou em conjunto.

Para análise dos 68 laudos levou-se em consideração valores de referência obtidos na literatura, os quais descrevem que em cães o valor normal de fibrinogênio se encontra entre 200 a 400 mg/dL e leucócitos totais entre 6.000 a 17.000/ μ L (TIZARD, 2008; MEYER, COLES e RICH, 2003; DUKES, 2004).

Os resultados de fibrinogênio obtidos no presente estudo variaram de 600 a 1.200 mg/dL e a leucometria global de 17.120 a 31.600/ μ L. Do total de laudos averiguados 27,94% (19/68)

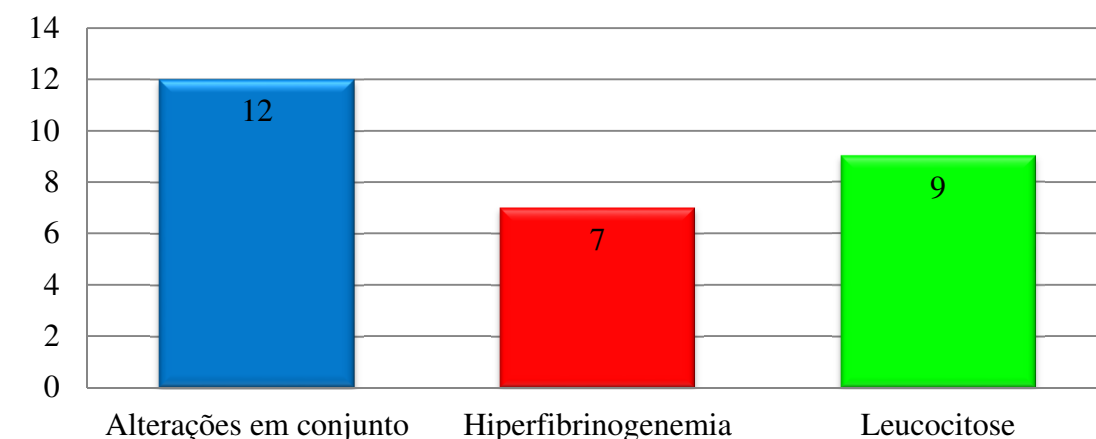
apresentaram hiperfibrinogenemia, enquanto 72,06% (49/68) estavam dentro do valor de referência esperado para a espécie. Com relação ao leucograma, 30,88% (21/68) demonstraram quadro de leucocitose, enquanto 69,12% (47/68) continham valores na faixa ideal (Gráfico 1).

Gráfico 01 – Número de amostras que apresentaram-se dentro ou acima do valor de referência de fibrinogênio e leucócitos.



Levando em consideração que foram obtidos 19 laudos com hiperfibrinogenemia e 21 laudos com leucocitose, totalizando 40 resultados aumentados, positivos para inflamação. Quando analisado os resultados separadamente, pode-se constatar que 36,84% (7/19) apresentam apenas hiperfibrinogenemia, 42,85% (9/21) continham apenas leucocitose e 30% (12/40) continham alterações em conjunto, estando aumentado tanto o fibrinogênio quanto o número total de leucócitos (Gráfico 2).

Gráfico 02 – Número de amostras com hiperfibrinogenemia, leucocitose e alterações em conjunto.



Com base nos resultados obtidos é possível estabelecer uma estimativa confiável de alteração em fibrinogênio quando se tem alteração no leucograma, observando os resultados de alterações demonstrados nas colunas em vermelho, se concretiza uma margem de aproximadamente três pontos percentuais de diferença entre exames. Porém é notado que possui um maior aumento de leucocitose em separado demonstrado na coluna em verde.

Todavia, em resposta ao problema proposto pelo trabalho se tem uma variação relevante para o diagnóstico definitivo, foi desenvolvido o Gráfico 02, o qual demonstra alterações de fibrinogênio em conjunto com alterações no leucograma 30% (12/40) e também assim sendo de suma importância em resposta ao problema, alterações prévias em fibrinogênio para com o leucograma 36,84% (7/19), correlacionando alterações entre os exames. Porém é fato que, possuem exames os quais resultaram em alterações em leucograma sem ocorrer alteração em fibrinogênio, com 42,85% (9/21) de leucocitose.

Com isso, é agregada a pesquisa, um resultado satisfatório em modo que o fibrinogênio se apresenta com grande importância na clínica de cães, pois em alguns casos o mesmo poderá diagnosticar uma inflamação enquanto o leucograma não consegue detectá-la. O que corrobora com o descrito por Vecina, Patrício e Ciarlini (2006) que comprovaram a alteração prévia em fibrinogênio em relação ao leucograma de cães perante processos inflamatórios.

Entretanto, é fato que, a utilização do fibrinogênio é útil para a clínica de cães, mesmo com a baixa amostragem utilizada na pesquisa foram obtidos resultados expressivos, com isso se tem uma significância do fibrinogênio para o diagnóstico de processos inflamatórios, o resultado obtido no presente estudo corrobora com Barcellos *et al* (2012), o qual afirma que o fibrinogênio tem como característica a indicação de patologias prévias a alteração em leucograma e que é um relevante exame na detecção de processos inflamatórios em cães. Além disso, o autor afirma ainda que isso torna capaz a introdução de tratamento antes do agravamento do quadro clínico do paciente, tendo como resultado um melhor prognóstico.

Apesar disso, alterações somente de leucocitose também ocorreram, o que corrobora com o descrito por Jain (1993), podendo ser de origem inflamatória ou fisiológica devido ao estresse. Ficando claro que o exame de leucograma é mais eficiente que o de fibrinogênio, porém os dois juntos são obviamente mais eficazes.

Assim como na determinação do fibrinogênio, o leucograma também varia de acordo com espécie, intensidade da inflamação, idade, causa e localização da inflamação. No momento que a medula óssea recebe estímulo inflamatório, já se passaram três dias do processo inflamatório tendo como indicador a leucocitose por neutrofilia (SCHULTZE, 2000; KERR, 2003). Porém, segundo

Dukes (2004), para o fibrinogênio a resposta ao processo inflamatório se dá rapidamente após o início da inflamação.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho se propôs a fazer uma análise da eficácia do biomarcador de fibrinogênio em resposta a processos inflamatórios em cães na patologia clínica, frente a resposta do exame de leucometria.

Os resultados foram uma maior alteração em conjunto de leucocitose e hiperfibrinogenemia e concretizou-se uma maior alteração de leucocitose, mas não menos importante ocorreram alterações significantes de hiperfibrinogenemia perante uma leucocitose. com base nisso, foi determinado que a dosagem de fibrinogênio é de suma importância para auxiliar nos exames para a detecção de processos inflamatórios, não sozinho mas sim em conjunto com o leucograma.

REFERÊNCIAS

ANDREWS, D. A.; REAGAN, W. J.; DeNICOLA, D. B. Plasma fibrinogen in recognizing equine inflammatory disease. **Continuing education for the practicing veterinarian**, Yardley, DA, v.16, n.10, p.1349-1357, 1994.

BARCELLOS, L. E. K. *et al* Associação dos índices de fibrinogênio e contagem de leucócitos: auxílio de diagnóstico em cães, **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. São Paulo, v. 10, n.19, p. 3-5, 2012.

COLES, E. H.; MEYER, D. J.; RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. 1 ed. São Paulo: 2003. Cap 3, p. 23-36.

DUKES, H. H. Fisiologia dos Animais Domésticos. 12 ed. Rio de Janeiro: 2004. Cap 1, p. 19-43.
EK, N. The quantitative determination of fibrinogen in normal bovine plasma and in cow with inflammatory conditions. **Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum**, Denmark, v.13, p.174-184, 1972.

JAIN, N. C. Interpretation of Leukocyte Parameters. In: **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: **Lea & Febiger**, cap.18, p.295-306. 1993.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 7. ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 912.

KANTEK C. E. **Manual de hematologia veterinária**. 2.ed. São Paulo: 2005. Cap 4, p. 55-78.

- KERR, M. G. **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária: Bioquímica Clínica e Hematológica**. 2.ed. São Paulo: 2003. Cap 1, p. 3-39.
- LUCIDI, C. A; TAKAHIRA, R. K. Uso de estimulante de colônia de granulócitos nas neutropenias em cães e gatos. **Ciência Rural**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 915-920.
- McSHERRY, B. J; HORNEY, F. D.; deGROOT, J. J. Plasma fibrinogen levels in normal and sick cows. **Canadian Journal Comparative Medicine**, Canada, v.34, n. 7, p.191-197, 1970.
- RUBIO, C. P.; SCHMIDT, E. M. S. Proteínas de fase aguda em cães: possíveis aplicações em cirurgia, **Vet. e Zootec.** p. 492-502, 2014.
- SCHUTZE, A. E. Interpretation of canine leukocyte responses. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5ªed., Philadelphia: Lippincott Willian & Wilkins, cap. 55, p. 366-381. 2000.
- THOMAS, J. S. Overview of plasma proteins. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5ªed., Philadelphia: Lippincott Willian & Wilkins, 2000, cap. 134, p. 891-898, 2000.
- TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**. 8.ed. Rio de Janeiro: 2008. Cap 3, p.29-41.
- VECINA, J. F.; PATRÍCIO, R. F.; CIARLINI, P. C. Importância do fibrinogênio plasmático na identificação de processos inflamatórios de cães. **Ciências Veterinárias dos Trópicos**, Recife, v. 9, n. 1, p. 31-35, 2006.
- WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Shalm's veterinary hematology**. 6 ed, Philadelfia: Wiley-Blackwell, 2010. P, 1232.