MARIANA YUKARI UEDA

**Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína-C
Reativa (CRP) em cães com doença valvar degenerativa
crônica mitral**

São Paulo
2015

MARIANA YUKARI UEDA

**Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína–C
Reativa (CRP) em cães com doença valvar degenerativa crônica
mitral**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Clínica Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de Concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof^a. Dr^a. Denise Saretta Schwartz

São Paulo
2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3197
FMVZ

Ueda, Mariana Yukari
Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína-C Reativa (CRP) em cães
com doença valvar degenerativa crônica mitral / Mariana Yukari Ueda. -- 2015.
79 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Denise Saretta Schwartz.

1. Doença valvar degenerativa crônica mitral. 2. Cão. 3. CRP. 4. RDW. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína-C Reativa (CRP) em cães com doença valvar degenerativa crônica mitral", protocolado sob o nº 2543/2012, utilizando 160 (cento e sessenta) cães, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Denise Saretta Schwartz, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 14/3/2012.

São Paulo, 22 de julho de 2015.

Alice Maria Melville Paiva Della Libera
Vice-Presidente

Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº87
ade.Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Paulo/SP – Brasil
08-270

Fone: + 55 11 3091-7676/0
Fax: +55 11 3032-4
e-mail: ceuavet@u
<http://www.fmvz.usp.br/comissao-de-etica->
<http://orion.fmvz.usp.br/index>

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: UEDA, Mariana Yukari

Título: Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína- C Reativa (RCP)
em cães com doença valvar degenerativa crônica de mitral.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Clínica Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Tânia e meu pai Ricardo e minha irmã Giuliana por sempre estarem ao meu lado, pela educação, amizade e amor incondicional. Obrigada por tudo!

Ao meu namorado Gustavo agradeço pela companhia, apoio, paciência e incentivo, te amo muito!

Aos meus primos Roberto Alexandre, Mário Sérgio, Edson Sassaki que sempre, desde pequena, me inspiraram profissionalmente.

Aos meus amigos e companheiros de pós-graduação, Jacqueline Ribeiro de Castro, Matheus Mاتيoli Mantovani, André Martins Gimenes, Caio Nogueira Duarte, Paula Itikawa, Lilian Caram Petrus, Julia Só Severo, Aline Santana pelo apoio incondicional durante o projeto e a confecção da tese.

À Profa. Denise Saretta Schwartz pela orientação, ensinamentos e conselhos. Muito obrigada pela amizade e oportunidade de aprender muito com a senhora!

Às Profas. Mitika Hagiwara e Márcia Mery Kogika por sempre estarem dispostas a me ajudar nos esclarecimentos e elucidações a respeito do estudo durante todo o período da pós-graduação.

À Médica Veterinária Samantha I. Miyashiro pelo auxílio para realizar ensaios de ELISA e sempre disposta a responder dúvidas de patologia clínica.

Aos enfermeiros Antônio Carlos Malaquias, Carlito dos Santos Belau, Gilberto Pereira da Cruz e Milton Gregório por todo apoio nas coletas de sangue

Aos médicos veterinários contratados (Guilherme T. Goldfeder, Khadine K. Kanayama, Denise M. Simões, Andrea C. Ferreira, Bruna Coelho Silva e Vera Wirthl), os residentes, os estagiários e pela contribuição e convivência ao longo desses anos de pós-graduação.

A todos os funcionários do VCM e HOVET-FMVZ-USP pela ajuda.

A todos os cães que participaram deste estudo pela grande colaboração para a pesquisa.

RESUMO

UEDA, M. Y. **Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína- C reativa (CRP) em cães com doença valvar degenerativa crônica mitral.** [Red blood cell width (RDW) and C-Reactive Protein (CRP) in dogs with chronic degenerative mitral valve disease]. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O RDW é um índice hematológico utilizado para avaliação quantitativa da anisocitose eritrocitária, sendo útil na diferenciação das causas de quadros anêmicos. Atualmente, na medicina humana, o RDW tem sido considerado como um importante fator prognóstico em quadros de ICC, mesmo na ausência de anemia. A CRP é considerada a principal proteína de fase aguda sendo amplamente utilizada como marcadora de inflamação. O objetivo deste estudo foi determinar se há diferença nos valores do RDW e da concentração da CRP em cães com DVDCM com e sem ICC, bem como nos diferentes estágios (A, B1, B2, C e D) da doença, segundo a classificação da ACVIM, comparados a cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca, e associações entre as variáveis. Esta pesquisa constituiu um estudo clínico observacional prospectivo transversal de caráter exploratório, realizada em cães com DVDCM. Para tal, foram selecionados 141 cães, de até 20kg, machos e fêmeas. O grupo com ICC e sem ICC apresentaram menor número de hemácias, hemoglobina e hematócrito em relação ao grupo controle ($P < 0,001$). O índice RDW não diferiu entre os grupos estudados quando foram alocados quanto ao estadiamento ACVIM ($P = 0,25$), quanto à presença de ICC ($P = 0,146$), ou de remodelamento cardíaco ($P = 0,078$). Quanto à CRP, os grupos C e D (C: 2.251 ng/dL, 962,05-5.292,5 ng/dL e D: 3.628,4 ng/dL, 4.1592,3-6.254,5 ng/dL) apresentaram concentração maior que o grupo controle (1.685,5 ng/dL, 1.045,45-3.795,5 ng/dL). Quanto ao estadiamento da DVDCM os grupos diferiram entre si ($P = 0,014$) porém, não foi possível identificar quais grupos apresentaram diferença. O grupo com ICC (2.939,7-1.304,25-5.908,8 ng/dL) apresentou maior concentração de CRP em relação ao grupo controle (1.685 ng/dL, 1.1015,45-3.795,5 ng/dL) ($P = 0,03$). O grupo com remodelamento (4.916,66 $\pm$ 6.102,14) apresentou maior concentração de CRP em relação ao grupo sem remodelamento (2.510,67 $\pm$ 3,26) ($P = 0,009$). Houve correlação positiva fraca entre CRP e número total de leucócitos ($r = 0,197$;

P=0,019). Conclui-se que apesar de não ter sido detectada diferença significativa para o RDW houve tendência a valores maiores nos cães com remodelamento comparados aos sem remodelamento. A concentração de CRP foi maior nos cães com remodelamento cardíaco em relação àqueles sem remodelamento e nos cães com ICC em relação aos cães sem ICC e àqueles de raças predispostas, mas sem alterações cardíacas. A dosagem sérica de CRP juntamente com outros marcadores e exames complementares já utilizados rotineiramente, poderá ser útil na avaliação e acompanhamento de pacientes portadores de DVDCM.

Palavras-chave: Doença valvar degenerativa crônica mitral. Cão. RDW. CRP.

ABSTRACT

UEDA, M. Y. **Red blood cell width (RDW) and C-Reactive Protein (CRP) in dogs with chronic degenerative mitral valve disease.** [Amplitude de distribuição das hemácias (RDW) e Proteína- C Reativa (CRP) em cães com doença valvar degenerativa crônica mitral]. 2015. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

RDW is a hematological index used for anisocytosis quantitative assesment, and useful to diferenciate anemic states. In human medicine, it has been considered an important prognostic factor in heart failure (HF), even in the absence of anemia. CRP is considered the main acute phase protein, and it is widely used as a marker of inflammation. An exploratory prospective cross sectional study was conducted aiming to determine whether there is a difference in RDW and CRP concentration in dogs with chronic degenerative mitral valve disease (CDMVD) with and without HF, presence of remodeling, as well as between the different disease stages (A, B1, B2, C e D - ACVIM), compared to dogs of predisposed breeds, but without heart disease. For this study, 141 dogs, up to 20kg, males and females were distributed in groups in order to achieve the main golas. Dogs with and without HF presented smaller number of red blood cells, hemoglobin and hematocrit compared to control group ($P < 0.001$). RDW was not diferente between groups for CDMVD stages ($P = 0.25$), regarding HF presence ($P = 0.146$), or cardiac remodeling ($P = 0.078$). Groups C and D (C: 2,251 ng/dL, 962.05-5,292.5 ng/dL e D: 3,628.4 ng/dL, 4,1592.3-6,254.5 ng/dL) presented higher CRP concentration compared to control (1,685.5 ng/dL, 1,045.45-3,795.5 ng/dL). There was a difference in CRP concentration between groups, however, it was not possible to identify the differing groups ($P = 0.014$). CRP concentration was higher in HF group (2,939.7-1,304.25-5,908.8 ng/dL) compared to control (1,685 ng/dL, 1,1015.45-3,795.5 ng/dL) ($P = 0.03$). CRP concentration was higher in cardiac remodeling group ($4,916.66 \pm 6,102.14$) in relation to the group without remodeling ($2,510.67 \pm 3.26$) ($P = 0.009$). There was a weak positive correlation between CRP and total leucocyte count ($r = 0.197$; $P = 0.019$). We conclude that although we could not identify a significative difference for RDW, there was a tendency to increased values in dogs with cardiac remodeling. CRP concentration was higher in cardiac remodeling group and in HF group compared to control. CRP serum together with

other markers and auxiliary exams already routinely used may provide useful information for assessment and follow up of dogs with CDMVD.

Key words: Chronic degenerative mitral valve disease. Dog. RDW. CRP.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fluxograma da distribuição dos cães entre os grupos. Grupo A: cães saudáveis predispostos à doença valvar degenerativa crônica de mitral (DVDCM). Grupo B1: cães com DVDCM sem remodelamento cardíaco. Grupo B2: cães com DVDCM com remodelamento cardíaco, mas sem manifestações clínicas de insuficiência cardíaca congestiva (ICC). Grupo C: cães com DVDCM com manifestações clínicas de ICC. Grupo D: cães com DVDCM em ICC e refratários ao tratamento.....	34
Figura 2- Box Plot (mediana, P_{25} e P_{75} , mínimo e máximo). A: comparação dos níveis de CRP em cães nos estágios A, B1, B2, C e D da DVDCM. B: comparação dos níveis de CRP em cães do grupo controle e cães com DVDCM que foram alocados quanto à presença ou não de ICC. C: comparação dos valores de RDW em cães nos estágios A, B1, B2, C e D da DVDCM, D: comparação dos valores de em cães do grupo controle e cães com DVDCM que foram alocados quanto à presença ou não de ICC.	46
Figura 3- Box Plot (mediana, P_{25} e P_{75} , mínimo e máximo) A: Distribuição do RDW quanto à presença de remodelamento. B: Distribuição do CRP quanto à presença de remodelamento.	48
Figura 4- Correlação entre os níveis séricos de CRP e o número de leucócitos.....	49
Quadro 1- Classificação da DVDCM segundo ACVIM.	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação da DVDCM segundo ACVIM.....	23
Tabela 2 - Dados demográficos e resultados dos achados do histórico, exame físico, aferição da PAS, VHS e ECG realizados em 141 cães distribuídos conforme o estágio da DVDCM.....	43
Tabela 3- Variáveis hematológicas e CRP encontradas em 141 cães alocados conforme presença de ICC em cães portadores de DVDCM.....	44
Tabela 4- Variáveis hematológicas e CRP encontradas em 141 cães distribuídos conforme o estágio da DVDCM.....	45
Tabela 5- Valores de RDW e CRP quanto à presença de remodelamento.....	47
Tabela 6- Número de leucócitos e neutrófilos nos estágios da DVDCM	47

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A- Dados demográficos dos 141 cães incluídos no estudo70

Apêndice B-Valores dos dados hematológicos dos 141 cães incluídos no estudo.. 75

LISTA DE ABREVIATURAS

ACVIM	American College of Veterinary Interna Medicine
AE	Átrio esquerdo
ALT	Alaninoaminotransferase
Ao	Aorta
CDMVD	Chronic degenerative mitral valve disease
CMD	Cardiomiopatia dilatada
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
cTn	Troponina cardíaca
DVDCM	Doença valvar degenerativa crônica de mitral
DRC	Doença renal crônica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
E/E'	Razão entre a velocidade diastólica E do fluxo mitral e a velocidade diastólica E' do anel mitral
ELISA	Enzyme linked immunosrbent assay
EPO	Eritropoetina
FA	Fosfatase alcalina
FC	Frequência cardíaca
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FR	Frequência respiratória
HAP	Hipertensão arterial pulmonar
HG	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HEM	Hemácias
HF	Heart failure
HOVET	Hospital Veterinário
Ht	Hematócrito
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IL-6	Interleucina -6
NT-proBNP	Porção N terminal do pro-peptídeo natriurético cerebral
mL	mililitro
µL	microlitro
ng	nanograma

NYHA	New York Heart Association
nm	Nanometros
PA	Pressão arterial sistólica
CRP	Proteína- C reativa
RM	Regurgitação mitral
RDW	Amplitude de distribuição e hemácias
TMB	Tetrametilbenzidina
TNF- alfa	Fator de necrose tumoral- alfa
USP	Universidade de São Paulo
VCM	Volume corpuscular médio
VE	Ventrículo esquerdo
VHS	Vertebral Heart Size

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
<	menor
>	maior
≤	menor ou igual
≥	maior ou igual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA	20
3 OBJETIVOS.....	31
4 HIPÓTESE	32
5 MATERIAL E MÉTODOS	33
5.1 ANIMAIS	33
5.3 EXAMES COMPLEMENTARES CARDIOLÓGICOS	36
5.4 COLHEITA DE MATERIAL.....	37
5.5 EXAMES LABORATORIAIS	38
6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
7 RESULTADOS.....	42
8 DISCUSSÃO	50
9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	55
10 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICE.....	70

1 INTRODUÇÃO

Doença valvar degenerativa crônica mitral (DVDCM) é a afecção cardíaca mais prevalente em cães (THRUSFIELD et al., 1985; KVART et al., 2005). Sua prevalência pode atingir de 14- 40% em cães de pequeno porte dependendo da raça (BEARDOW et al., 1993; CHETBOUL et al., 2004).

A DVDCM é resultante de degeneração mixomatosa crônica levando à incompleta coaptação dos folhetos valvares durante a sístole com regurgitação de mitral secundária (KITTLESON et al., 2003; GOUNI et al., 2007). Embora muitos indivíduos mantenham-se assintomáticos por muitos anos (KVART, et al., 2002; BORGARELLI et al., 2008) graves complicações podem ocorrer com a piora da progressão da regurgitação de mitral, incluindo insuficiência cardíaca congestiva (ICC) esquerda, ICC direita secundária à hipertensão arterial pulmonar (HAP) (CHIAVEGATO et al., 2009; LORD et al., 2010).

A amplitude de distribuição de hemácias, do inglês *red cell distribution width* (RDW) é um índice hematimétrico obtido a partir do coeficiente de variação do volume individual dos eritrócitos, e reflete de forma quantitativa a anisocitose de hemácias. Em humanos, valores de RDW aumentados podem ser decorrentes de inúmeras situações como ineficiência hematopoiética secundária à hemólise, deficiência de vitamina B₁₂, hemoglobinopatias e anemia ferropriva, bem como, gestação, alterações hematológicas (como púrpura trombocitopênica idiopática) e cistite idiopática (CLARKE, et al., 2008; JAGAJOTHI et al., 2007; SHEHATA et al., 1998).

Recentemente, valores aumentados de RDW têm sido relacionados com maior taxa de mortalidade e piora do quadro em pacientes humanos com ICC (FELKER et al., 2007), bem como outras condições como, infarto do miocárdio (TONELLI, et al., 2008), pacientes idosos (PATEL, et al., 2009) doenças pulmonares, sepse, cancer; diabetes, acidente vascular cerebral, anemia (PATEL, et al., 2015)

Alguns potenciais mecanismos sugeridos no envolvimento do aumento do RDW são inflamação crônica, deficiência nutricional, produção ineficiente de eritropoietina e associação com comorbidades (FELKER et al., 2004; TANG et al., 2006).

A Proteína C Reativa (CRP) é considerada uma proteína de fase aguda da inflamação, e o aumento da sua atividade está associado a inúmeras condições de

inflamação. Em medicina humana, testes ultrasensíveis são utilizados para as mensurações de CRP e esta é considerada uma nova ferramenta na avaliação de doenças cardíacas (DVORAKOVA et al., 2004) e coronarianas (RIDKER et al., 2003). Em um estudo realizado em 2002, os autores mensuraram concentração da CRP em pacientes humanos com ICC e concluíram que maiores valores estavam relacionados com maior número de hospitalizações e maior risco de óbito (ALONSO-MARTINEZ et al., 2002).

Estudo conduzido na medicina veterinária em cães com ICC secundária a DVDCM e a cardiomiopatia dilatada (CMD) de ocorrência natural mostrou que indivíduos com ICC apresentaram maior concentração de CRP quando comparados a indivíduos sem doença cardíaca. Nesse mesmo estudo, valores altos de CRP foram relacionados com piora da função endotelial, que pode estar envolvida na progressão da DVDCM e da CMD (CUNNINGHAM et al., 2012).

Poucos estudos foram realizados até o momento envolvendo o comportamento do RDW e da CRP em cães portadores de DVDCM. Desta forma, este estudo tem o objetivo de determinar se há diferença nos valores do RDW e da concentração da CRP em cães com DVDCM com e sem IC, bem como nos diferentes estágios da doença, segundo a classificação da ACVIM, comparados a cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca.

2 REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

A DVDCM é a doença cardíaca adquirida mais comum em cães, representando 75% das doenças cardiovasculares nessa espécie (OLSEN et al., 2010); SISSON et al., 1999).

Sua prevalência é maior em cães de pequeno porte, embora indivíduos de porte grande possam ser acometidos (BORGARELLI et al., 2012). Estima-se que a prevalência e sua gravidade aumentam com a idade (NELSON & COUTO, 2010). A doença acomete uma e meia vezes mais machos do que fêmeas (1:1,5), e aproximadamente 30% dos cães portadores de DVDCM eventualmente evoluem para insuficiência cardíaca congestiva (BORGARELLI et al., 2010).

A causa da DVDCM ainda não foi completamente elucidada, porém parece ter um componente hereditário em algumas raças como Cavalier King Charles Spaniel e Dachshund, sugerindo hereditariedade poligênica (OLSEN et al., 1999; SWENSON et al., 1996). A doença causa alterações celulares, bem como na matriz intercelular do aparato valvar (composto pelos folhetos das válvulas e cordoalha tendínea). Macroscopicamente, as cúspides de aspecto normais apresentam superfície lisa e translúcida, já na presença da DVDCM os folhetos tornam-se opacos, espessados e irregulares, com nodulações marginais (FOX, 2012). As lesões iniciais apresentam-se com os bordos valvulares espessados e sua progressão pode resultar em aspectos nodulares (FOX, 2012). Em casos mais avançados as lesões projetam-se para átrio esquerdo levando ao quadro de prolapso de válvula mitral (FOX, 2012).

Histologicamente, as lesões apresentam-se com destruição do colágeno e deposição de ácido mucopolissacarídeo na camada esponjosa e fibrosa (BORGARELLI et al., 2012).

A DVDCM causa incompleta coaptação dos folhetos e consequente regurgitação mitral (OLSEN et al., 2010). A deformação progressiva valvular impede a coaptação adequada dos folhetos levando ao desenvolvimento de regurgitação para átrio esquerdo (ATKINS et al., 2009). Aumento progressivo do volume regurgitante aumenta o trabalho cardíaco, induz o remodelamento cardíaco e disfunção ventricular (ATKINS et al., 2009).

A doença é caracterizada por um longo período assintomático e alguns animais não apresentam progressão da insuficiência de válvula mitral e consequente insuficiência cardíaca congestiva (ICC), e, vêm a óbito por outras causas (BORGARELLI et al., 2008).

A apresentação clínica de animais portadores de DVDCM é variável, podendo ser assintomática ou sintomática. Nos indivíduos sintomáticos, clínicos costumam estar relacionados à diminuição da tolerância a exercícios e a manifestações de congestão pulmonar e edema como, redução da capacidade de exercícios, tosse e dispneia (NELSON; COUTO, 2010). Com a piora da congestão pulmonar e do edema intersticial, há aumento da frequência respiratória mesmo que em repouso e a tosse tende a ser mais observada durante a noite e pela manhã. Com a progressão para edema pulmonar grave o indivíduo apresenta desconforto respiratório importante e, muitas vezes, tosse produtiva (NELSON; COUTO, 2010).

DVDCM resulta em sopro holossistólico mais audível na área do ápice esquerdo que pode irradiar-se para qualquer direção. Em alguns estudos a intensidade do sopro está associada à doença mais avançada (HÄGGSTRÖM et al., 1995; LJUNGVALL et al., 2009).

Embora a ausculta de sopro sistólico no ápice esquerdo seja fortemente sugestiva de DVDCM, a confirmação é feita pelo exame ecocardiográfico para se excluírem presença de outras doenças que levam à regurgitação de mitral como displasia de válvula mitral (BORGARELLI et al., 2010). A movimentação anormal e prolapso de um ou ambos os folhetos da válvula mitral são os achados comuns na DVDCM ao exame ecocardiográfico (PEDERSEN et al., 2000; TERZO, 2009). Em alguns estudos, o aumento atrial esquerdo mostrou-se um importante indicador de risco de óbito uma vez que reflete a gravidade de regurgitação mitral (BORGARELLI et al., 2008, HÄGGSTRÖM et al., 2008, SERRES et al., 2007). A razão do diâmetro do átrio esquerdo (AE) com o diâmetro da aorta (AO) é um parâmetro importante para quantificar o grau de aumento do átrio esquerdo. Considera-se valor normal de relação AE/Ao valores inferiores a um e meio ($AE/Ao \leq 1,5$) (OLSEN et al., 2010). Na DVDCM, índices como fração de encurtamento do ventrículo esquerdo e fração de ejeção, estão geralmente dentro dos valores de normalidade (em graus discretos de DVDCM) ou aumentados (graus moderados a importantes de DVDCM) (OLSEN et al., 2010).

A regurgitação mitral (RM) de grau discreto não induz nenhuma alteração quanto a tamanho e função cardíaca, não ocorrendo remodelamento. O fluxo sanguíneo ejetado do ventrículo esquerdo (VE) é mantido, e o pequeno volume regurgitante é conservado no átrio esquerdo (OLSEN et al., 2010). Com a progressão das lesões valvares, o volume de sangue regurgitante aumenta, levando a ativação dos mecanismos neuro-hormonais compensatórios para manutenção do débito cardíaco (HÄGGSTRÖM et al., 2005). A diminuição do débito cardíaco causa um aumento do volume diastólico final no ventrículo (pré-carga) e aumento da frequência cardíaca. O aumento da pré-carga causa aumento na força de contração segundo o mecanismo de Frank-Starling. No início da sístole (equivalente ao período isovolumétrico) a resistência ao esvaziamento ventricular esquerdo (VE) fica reduzida, pois, o volume regurgitante é ejetado para o átrio esquerdo a uma baixa pressão, antes de se atingir uma pressão suficientemente alta para abrir a válvula aórtica e iniciar a ejeção de sangue para a circulação sistêmica (HÄGGSTRÖM et al., 2005). Esta mudança hemodinâmica causa aumento da movimentação do ventrículo esquerdo, denominada hipercinesia (BORGARELLI et al., 2012; HÄGGSTRÖM et al., 2005). Nesses casos, a função sistólica do miocárdio está aparentemente preservada, pois, a ejeção do volume excedente para o átrio esquerdo requer um trabalho relativamente pequeno para o VE (BORGARELLI et al., 2012). Todavia, devido à sobrecarga volumétrica crônica e consequente hipertrofia excêntrica compensatória, apesar de necessária, é um remodelamento patológico, havendo comprometimento da contratilidade cardíaca que se instala lentamente (BORGARELLI et al., 2012).

O átrio esquerdo apresenta função importante em acomodar o volume regurgitante, protegendo o leito vascular pulmonar da hipertensão. O aumento na pressão atrial esquerda resulta em congestão e edema pulmonar (HÄGGSTRÖM et al., 2005). O efeito do volume regurgitante sobre a pressão no átrio esquerdo e consequentemente no leito capilar pulmonar depende do tamanho do átrio esquerdo bem como da complacência da parede atrial esquerda. A complacência atrial esquerda é determinada pela taxa do aumento de volume regurgitante e pelo grau de remodelamento cardíaco (HÄGGSTRÖM et al., 2005). Em casos em que a DVDCM progride lentamente geralmente o aumento atrial é importante levando a um quadro mais tardio de hipertensão e edema pulmonar. O edema também acontece mais tardiamente devido ao desenvolvimento de uma drenagem linfática mais eficaz

em condições de hipertensão pulmonar crônica (HÄGGSTRÖM et al., 2005). O aumento atrial pode induzir tosse pela compressão dos brônquios principais que ficam dorsalmente ao átrio esquerdo (OLSEN et al., 2010).

Em 2009 o Colégio Americano de Medicina Interna Americano (ACVIM) criou diretrizes para diagnóstico e tratamento da DVDCM. Nestas diretrizes, os cães portadores de DVDCM são classificados em estágios de acordo com a manifestação clínica e fatores de risco de desenvolver DVDCM (ATKINS et al., 2009).

Nesta classificação são incluídos indivíduos com maior risco de desenvolver a doença cardíaca, mas que ainda não apresentam nenhuma alteração cardíaca estrutural (denominado como estágio A), ou seja, cães de raças predispostas, como Cavalier King Charles Spaniel e Dachshund (ATKINS et al., 2009).

Quadro 1- Classificação da DVDCM segundo ACVIM.

Estágio	Classificação
A	Animais com predisposição, mas sem alteração cardíaca estrutural identificável.
B1	Animais assintomáticos. Animais com alteração estrutural de doença cardíaca (presença de sopro cardíaco de válvula mitral), sem evidências radio e ecocardiográficas de remodelamento cardíaco.
B2	Animais assintomáticos. Animais com alteração estrutural de doença cardíaca (presença de sopro cardíaco de válvula mitral), com evidências radio e ecocardiográficas de remodelamento cardíaco.
C	Animais com manifestações clínicas de insuficiência cardíaca associada à doença estrutural de doença cardíaca e submetidos à terapia medicamentosa.
D	Doença cardíaca presente com sinais de insuficiência cardíaca avançada. Manifestações clínicas manifestadas em repouso. Animais refratários à terapia padrão. Necessária hospitalização e tratamento intensivo.

Fonte: (ATKINS, C. et al., 2009). *Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease*

Os indivíduos que compõe o estágio B são aqueles que apresentam doença cardíaca estrutural, que é identificada pela presença de sopro sistólico típico de regurgitação de mitral, mas não apresenta sinais clínicos de ICC (ATKINS et al., 2009). Os autores do consenso criaram subclassificação desses indivíduos: aqueles que não apresentam sinais radiográficos e ecocardiográficos de aumento de câmaras cardíacas são classificados como estágio B1 e aqueles que apresentam aumento de átrio e ventrículo esquerdo são classificados como estágio B2 (ATKINS et al., 2009). Essa sub-classificação enfatiza que cães assintomáticos compõe um grupo bastante heterogêneo, de indivíduos com doença em estágio inicial e aqueles

que apresentam a afecção em estágio mais avançado e em risco de desenvolvimento de ICC (BORGARELLI et al., 2010). O reconhecimento desse grupo heterogêneo implica na importância de se identificar fatores de risco para o desenvolvimento da ICC (BORGARELLI et al., 2010).

Cães classificados como estágio C apresentam manifestações clínicas de ICC associadas a alterações cardíacas estruturais (ATKINS et al., 2009), e aqueles no estágio D são animais no estágio final da DVDCM que apresentam manifestações clínicas de ICC avançadas e são refratários à terapia padrão (ATKINS et al., 2009).

Para os cães que evoluem para ICC, o tempo de sobrevivência está relacionado a vários fatores incluindo o comprometimento do proprietário na prestação de cuidados adequados, complicações cardiopulmonares como hipertensão pulmonar e ruptura de cordão tendíneo, e presença de outras comorbidades (BORGARELLI et al., 2010).

Estudos relacionados à fisiopatologia da ICC possibilitaram a evolução do conceito de que o coração passou a ser compreendido não como uma simples bomba, mas como um órgão associado a doenças complexas que afetam os múltiplos sistemas orgânicos (DE MADRON, 2011).

Muitos pacientes humanos portadores de ICC apresentam anemia concomitantemente que leva a uma piora no quadro e progressão da ICC (MAEDA et al., 1982; VOLPE et al., 1994).

A prevalência de anemia observada em pacientes humanos cardiopatas varia de 9.9% a valores superiores a 50% (COHN, 2001). Essa variabilidade depende, em parte, das diferenças das populações estudadas (presença ou não de comorbidades e da classe funcional da New York Heart Association – NYHA), mas, acima de tudo, dos valores de referência utilizados para diagnosticar a anemia (COHN, 2001; SILVERBERG, 2000).

Em humanos, observou-se que muitos pacientes com ICC apresentam níveis de hemoglobina próxima do limite inferior (HABER, 1991). A anemia tem sido considerada como fator independente para o aumento da morbidade e mortalidade em pacientes com ICC (HORWICH, 2002; ANAND, 2004). A causa da anemia em pacientes com ICC pode ser decorrente do comprometimento da função renal, que por sua vez, leva à diminuição na produção de eritropoietina (TONG, 2001). No entanto, estudos realizados em cobaias relatam ICC relacionada com anemia sem evidência de doença renal crônica (DRC) (IVERSEN, 2002). Neste mesmo trabalho,

demonstrou-se que a atividade hematopoiética da medula está expressivamente diminuída em indivíduos portadores de ICC, sugerindo que uma das causas possa ser a maior produção de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) na ICC (IVERSEN, 2002).

Estudos preliminares realizados em medicina humana demonstraram que o aumento dos valores de hemoglobina com o uso de agentes estimuladores da eritropoiese em pacientes cardiopatas, melhorou a classe funcional NYHA, a função cardíaca, a tolerância a exercícios físicos com diminuição do uso de diuréticos, bem como do número de hospitalizações (PALAZZUOLI, 2011). Em pacientes humanos com DRC e anêmicos, o tratamento com eritropoetina tem promovido melhora da classe funcional, reduzindo hipertrofia do ventrículo esquerdo (LOW, 1989; GOLDBERG, 1992) e prevenindo dilatação ventricular esquerda (VAN DER MEER, 2004). Em pacientes com função cardíaca reduzida, a eritropoetina contribui para o aumento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo bem como do débito cardíaco (LOW, 1989; GOLDBERG, 1992).

Uma ferramenta útil para avaliar-se a anemia é a amplitude de distribuição das hemácias (RDW do inglês *red cell distribution width*). É uma medida quantitativa que representa a variação do volume individual dos eritrócitos. Numericamente é calculada pela fórmula: (desvio padrão do volume corpuscular médio/volume corpuscular médio) x 100. (DUNCAN; PRASSES, 1994). Atualmente, analisadores hematológicos com base em citometria de fluxo por laser medem índices eritrocitários VCM, HCM, CHCM e RDW, bem como a contagem de reticulócitos (HODGES et al., 2011).

Há anos, o RDW tem sido utilizado como ferramenta para se diferenciar possíveis causas de anemia como talassemia, anemia megaloblástica bem como anemia ferropriva em humanos (LIN et al., 1992). Recentemente, o índice RDW tem sido investigado como potencial ferramenta diagnóstica para doenças não-hematológicas como hepatopatias (HU et al., 2013a; LU et al., 2012), distúrbios auto-imunes (HU et al., 2013b; YESIL et al., 2011), respiratórias (OZSU et al., 2012; NATHAN et al., 2013) e cardiovasculares (MONTAGNANA et al., 2012).

Aumentos do RDW podem indicar aumento da anisocitose de uma população eritrocitária e pode ser mais sensível do que o volume corpuscular médio (VCM) na detecção de alterações precoces no tamanho das hemácias (NEIGER, 2002). Recentemente, valores maiores de RDW foram correlacionados com maior número

de mortes e eventos cardiovasculares em pacientes com infarto do miocárdio, sem sinais prévios de ICC. O RDW é um forte indicador de morbidade e mortalidade em pacientes portadores de ICC (FELKER et al., 2007). Outras condições clínicas relacionadas com aumentos de RDW incluem produção de eritrócitos ineficaz (secundária à deficiência de ferro, vitamina B₁₂, ácido fólico e hemoglobinopatias) e hemólise. Outras associações também têm sido correlacionadas como hepatopatias, desnutrição, neoplasia oculta de cólon e metástase em medula óssea (FELKER et al., 2007).

O RDW mostrou-se um preditor independente de re-hospitalizações e morte em pacientes com ICC sendo um marcador de prognóstico igual à porção N terminal do pro-peptídeo natriurético cerebral (NT-proBNP) (FÖRHÉCZ et al., 2009).

O RDW mostrou-se um forte marcador em quadros de anemia ferropriva de doenças crônicas em pacientes portadores de ICC (FÖRHÉCZ et al., 2009). Ainda nesse mesmo trabalho, a associação de aumentos de RDW e eritropoietina (EPO) sugere que os efeitos da EPO na medula óssea possam estar suprimidos (FÖRHÉCZ et al., 2009).

Vários mecanismos têm sido propostos para justificar o aumento dos valores de RDW na ICC, incluindo a participação de processos inflamatórios crônicos, produção insuficiente de EPO e a somatória de outras comorbidades (FÖRHÉCZ et al., 2009).

Estudo realizado em 2010 apontou um dos possíveis mecanismos envolvidos no aumento do RDW em pacientes com ICC, avaliando-se o comportamento das concentrações de ferro sérico, a capacidade ligação ferro, a ferritina sérica e a saturação de ferro e se concluiu que a concentração sérica de ferro diminuía em valores mais altos de RDW, enquanto a capacidade de ligação de ferro mantinha-se igual, resultando em baixa saturação de ferro, embora a ferritina estivesse em valores normais, consistente com quadro de anemia da inflamação crônica (ALLEN et al., 2010). Foram realizadas dosagens de citocinas inflamatórias e os resultados sugerem uma específica associação entre aumento de citocinas inflamatórias, em particular a interleucina 6 (IL-6), com aumento dos valores de RDW (ALLEN et al., 2010). A IL-6 está fortemente relacionada a um aumento na transcrição do gene da hepcidina, peptídeo produzido no tecido hepático e protagonista dos quadros de anemia da inflamação crônica (ALLEN et al., 2010).

Outro mecanismo potencialmente envolvido no aumento do RDW, sugerido por Patel et al. (2015), é o atraso do *clearance* de eritrócitos senescentes. A taxa de *clearance* de eritrócitos é cuidadosamente controlada em pacientes hígidos e reduzida em algumas situações clínicas de doença. À medida que as hemácias envelhecem, tornam-se menores levando a aumento do RDW. Segundo este estudo, o *clearance* das células eritróides é um fator fundamental na fisiologia humana, que se adapta a situações súbitas de queda na produção de eritropoietina. Uma vez que o valor do RDW é calculado pela razão entre o desvio padrão do VCM sobre o valor do VCM, o aumento do RDW é causado pelo aumento do desvio padrão do VCM, diminuição dos valores do VCM ou ambos. Consideram-se como possíveis causas do aumento do RDW: a diminuição dos valores do VCM, aumento do número de reticulócitos circulantes e atraso no *clearance* de hemácias. Assim, concluíram que o atraso no *clearance* de hemácias senis está mais relacionado com aumento do RDW do que as demais causas, uma vez que os indivíduos com RDW maior apresentam hemácias com idade média maior (PATEL et al., 2015).

Em pacientes hospitalizados com descompensação aguda de ICC, o valor de RDW no momento da admissão foi um importante fator prognóstico para desfecho desfavorável após seis meses. Nenhum outro parâmetro clínico ou laboratorial foi capaz de prever desfecho na população estudada. Apesar de 60% dos pacientes incluídos nesse estudo apresentarem anemia, o RDW permaneceu um preditor independente de resultado após o ajuste para a hemoglobina ou deficiência de ferro, indicando que seu valor não está relacionado exclusivamente em casos de anemia (TSELIU et al., 2014).

Estudo conduzido na medicina humana concluiu que pacientes com histórico de infarto do miocárdio demonstrou que aumento do RDW está relacionado com maior taxa de mortalidade, maior chance de episódios cardio-vasculares e desenvolvimento de quadros de ICC (TONELLI et al., 2008).

O RDW teve uma correlação altamente positiva com painel de citocinas inflamatórias, inclusive a CRP que é considerada uma citocina de inflamação aguda (FÖRHÉCZ et al., 2009). Estudo realizado em pacientes humanos que sofreram infarto do miocárdio e que tinham RDW maior (RDW > 14%) tinham também concentração maior de CRP, sugerindo que aumentos do RDW possam estar relacionados com maior atividade inflamatória sistêmica (WANG et al., 2015).

A CRP é uma proteína de fase aguda da inflamação. As proteínas de fase aguda são caracterizadas por causarem diferentes fenômenos sistêmicos incluindo febre, leucocitose, aumento da concentração sérica de cortisol, diminuição sérica de hormônios tireoidianos e diminuição das concentrações de zinco e ferro (CERÓN et al., 2005). Os níveis séricos de CRP aumentam em resposta a um estímulo inflamatório levando à ativação do sistema complemento (VENCO et al., 2014). A CRP é produzida nos hepatócitos e sua liberação é induzida pelos aumentos de IL-6 (VENCO et al., 2014), embora alguns estudos em medicina humana sugiram que a CRP pode ser sintetizada em tecidos extra-hepáticos como rins, intestino e coração (FOURNIER et al., 2000). Compõe parte da resposta inflamatória imune-inata que é ativada por inúmeros estímulos como trauma, infecções, neoplasia e inflamações (CRAY et al., 2009). Por definição, as proteínas de fase aguda apresentam uma resposta que tem duração de poucos dias apresentando um papel fundamental nos mecanismos de defesa do organismo. Porém, o aumento das proteínas de fase aguda, principalmente a CRP, foi descrito em processos inflamatórios crônicos (MARTÍNEZ-SUBIELA, et al., 2002; HORADAGODA, et al., 1999). Nesses casos, a perpetuação dos estímulos inflamatórios contribui para piora da lesão tecidual causando complicações como deposição de proteína nos casos de amiloidose e progressão de doenças cardio-vasculares (CECILIANI, et al., 2002). Está relacionada a uma reação sistêmica complexa que o objetivo é promover homeostase e cura de processos patológicos (CRAY et al., 2009). A concentração sérica da CRP pode aumentar de 100 a 1.000 vezes mais em 24 a 48 após o estímulo inflamatório, e é usado como marcador de condições que levem à inflamação em humanos (NAKAMURA et al., 2008).

A CRP apresenta peso molecular de 100kD composta por cinco subunidades de 20 kD cada (CÉRON et al., 2005). Primeiramente a função da CRP foi relacionada pela sua habilidade em se ligar na camada de lipopolissacarídeo do *Pneumococcus pneumoniae*, e definida como um marcador sensível de inflamação de lesão tecidual (PEPYS et al., 2003; CECILIANI et al., 2002). Examinando-se por microscopia eletrônica, a CRP da espécie canina se assemelha à CRP humana, sendo que a diferença reside em duas das cinco subunidades que são glicosiladas (ECKERSALL, et al., 1988; VOLANAKIS et al., 1984), que pode explicar em parte, a diferença entre os kits para dosagens de CRP humana e canina.

Mensurações de CRP têm sido utilizadas como uma nova ferramenta na medicina humana para avaliar o prognóstico em quadros de doenças cardíacas e síndromes coronarianas agudas (EDWARD et al., 2003). O aumento da circulação sérica da CRP tem sido relacionado com piores quadros de doenças cardíacas em humanos (PYE et al., 1900).

Em medicina veterinária o aumento na concentração de CRP foi relatado em diversas condições com ativação da fase aguda da inflamação como: trauma cirúrgico (CONNER et al., 1988), neoplasias malignas como hemangiossarcoma e linfoma (MISCHKE et al., 2007; TECLES et al., 2005), pancreatite aguda (HOLM et al., 2004), anemia hemolítica imuno-mediada, artite, glomerulonefrite (ONISHI et al., 2000), e condições em que também há fator infeccioso envolvido como leptospirose, babesiose, parvovirose (CERÓN et al., 2005) e piometra (FRANSSON et al., 2004).

Cães com DVDCM apresentaram maiores níveis de CRP do que pacientes sem a doença sugerindo papel importante da inflamação na progressão da DVDCM (RUSH et al., 2006). Controversamente, outro estudo não encontrou valores aumentados de CRP em cães com DVDCM, sugerindo que este índice não é um bom parâmetro para avaliar a progressão de DVDCM em cães (LJUNGVALL et al., 2010). Considerando os resultados controversos na literatura, buscou-se realizar um estudo exploratório, a partir de um estudo clínico observacional prospectivo, que avalia biomarcadores em cães com DVDCM, com o intuito de responder às perguntas abaixo relacionadas:

- 1- Há diferença na amplitude de distribuição de tamanho eritrocitário (RDW) em cães com insuficiência cardíaca (IC) secundária à DVDCM, comparado a cães de mesmo porte, com doença valvar sem IC e com cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca?
- 2 – Considerando-se subgrupos, há diferença do RDW em cães nos diferentes estágios da DVDCM em comparação com cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca?
- 3 – Considerando-se subgrupos quanto à presença ou não de remodelamento, há diferença do RDW em cães sem remodelamento em comparação com remodelamento, na amostra geral?
- 4 – Há diferença na concentração de CRP em cães com IC causada por doença valvar degenerativa crônica mitral, comparado a cães com doença

valvar sem IC e com cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca?

5 – Considerando-se subgrupos, há diferença na concentração de CRP em cães nos diferentes estágios da doença valvar degenerativa crônica mitral com cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca?

6 – Considerando-se subgrupos quanto à presença ou não de remodelamento, há diferença do CRP em cães sem remodelamento em comparação com remodelamento, na amostra geral?

7 – Há correlação entre número de neutrófilos e a concentração de PCR?

3 OBJETIVOS

O presente estudo tem caráter exploratório e teve como objetivo principal determinar se há diferença nos valores do RDW e da concentração da CRP em cães com DVDCM com e sem ICC, bem como e nos diferentes estágios da doença, segundo a classificação da ACVIM, comparados a cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca.

Como objetivos secundários, pretendeu-se avaliar se há diferença em relação às variáveis hematológicas (hemácias, hematócrito, hemoglobina, RDW e número de leucócitos/neutrófilos) nos diferentes estágios da DVDCM, bem como avaliar a associação entre as variáveis hematológicas e a concentração sérica de CRP.

4 HIPÓTESE

Com base nos estudos realizados em humanos com ICC, e nos achados anteriores em cães, a hipótese desse estudo é que pacientes em estágios mais avançados de DVDCM apresentarão diferença nos valores de RDW em relação a cães em estágios iniciais e cães de raças predispostas, mas sem a doença cardíaca. Espera-se haver associação entre valores de RDW e concentração de CRP.

5 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e sob aprovação da Comissão de Bioética e Comissão de Ética Hospitalar da presente instituição e após prévia autorização dos responsáveis pelos cães incluídos na pesquisa, conforme o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido disponibilizado (protocolo 2543/2012).

5.1 ANIMAIS

O estudo foi realizado em população de cães selecionada da rotina do Serviço de Cardiologia do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET FMVZ-USP).

Foram considerados como critérios de inclusão, cães portadores de DVDCM, em diferentes estágios de evolução, machos e fêmeas com faixa etária variada e com peso de até 20kg, de forma a manter uma amostra mais homogênea. Foram excluídos animais que apresentavam comorbidades graves, como doença renal ou doença hepática avançada, doenças endócrinas, doenças infectocontagiosas e neoplasias.

Foram recrutados para este estudo 146 animais, dos quais, cinco foram excluídos por apresentarem lipemia (n=1), valor do RDW não disponível (n=2), ou indisponibilidade da coleta de exames (n=2). Incluíram-se 141 cães, os quais foram distribuídos em dois grupos: grupo controle (53 cães) e grupo DVDCM (88 cães) em diferentes estágios (B1, B2, C e D, segundo classificação da ACVIM) distribuídos conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1- Fluxograma da distribuição dos cães entre os grupos. Grupo A: cães saudáveis predispostos à doença valvar degenerativa crônica de mitral (DVDCM). Grupo B1: cães com DVDCM sem remodelamento cardíaco. Grupo B2: cães com DVDCM com remodelamento cardíaco, mas sem manifestações clínicas de insuficiência cardíaca congestiva (ICC). Grupo C: cães com DVDCM com manifestações clínicas de ICC. Grupo D: cães com DVDCM em ICC e refratários ao tratamento.

Quando os cães foram realocados de acordo com a presença ou não de ICC, o grupo sem ICC (estágios B1 e B2) foi representado por 52 cães e o grupo com ICC (estágios C e D) por 36 cães, e para a comparação entre cães com ou sem remodelamento, foram agrupados os cães de duas formas diferentes, em três grupos: estágio A (controle), estágio B1 e estágios B2+C+D (58 cães com remodelamento, independente da presença de ICC e em 2 grupos: estágio A + B1 (83 cães sem remodelamento) e B2+C+D (Figura 1).

Foram constituídos grupos com o intuito de responder às questões referentes aos objetivos do estudo. Desta forma, compararam-se os valores de RDW e da CRP entre combinações com os diferentes estágios da DVDCM.

Em cada um dos grupos foram avaliadas as variáveis hematológicas, a CRP, bem como a presença de associação RDW e CRP, e destas com as outras variáveis hematológicas citadas anteriormente.

5.2 ANAMNESE E EXAME FÍSICO

Os animais selecionados foram submetidos a um exame clínico detalhado, de acordo com Feitosa (2004). Na anamnese, foi questionado ao responsável a respeito de manifestações clínicas como tosse e sua relação com período do dia, cansaço fácil, dispneia, intolerância a exercício, cianose de mucosa, presença de edema de membros, ascite, síncope, epidemiologia para dirofilariose, apatia, sonolência, bem como apetite e ingestão hídrica, micção, aspecto da urina quanto a odor, frequência e quantidade bem como a ocorrência de êmese e diarreia.

Ao exame físico, foram avaliados parâmetros vitais como frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal, inspeção da coloração das mucosas e presença de secreções, hidratação pela elasticidade cutânea, palpação abdominal, palpação de linfonodos submandibulares, pré-escapulares e poplíteos quanto ao tamanho, formato, superfície, consistência, mobilidade e temperatura. O exame torácico envolveu inspeção, palpação, percussão dígito-dígito e auscultação cardiopulmonar indireta. A cavidade abdominal foi avaliada por palpação e percussão. O pulso arterial femoral foi palpado bilateralmente, e avaliado quanto às características absolutas e relativas sendo classificado clinicamente como normocinético, hipercinético ou hipocinético.

5.3 EXAMES COMPLEMENTARES CARDIOLÓGICOS

Após exame físico, os animais foram submetidos à aferição da pressão arterial sistêmica (PAS) pelo método não invasivo Doppler ultrassonográfico com a utilização do aparelho Parks Medical Electronics®, modelo 811-B, com seleção dos manguitos do tipo neonatal da marca Dixtal® correspondentes a 40% da circunferência do membro torácico esquerdo no terço médio da região radio-ulnar. O pulso foi localizado com transdutor posicionado sobre a artéria palmar entre os cossos carpianos e metacarpianos com auxílio de gel condutor após prévia tricotomia. Foram realizadas cinco mensurações da pressão arterial sistólica (PAS) a intervalos de 30 segundos com exclusão dos valores extremos e calculada a PAS média. O procedimento seguiu o protocolo para aferição da pressão sanguínea de acordo com as diretrizes do consenso declarado pelo ACVIM (BROWN et al., 2007).

O exame eletrocardiográfico foi realizado conforme Tilley e Goodwin (2002). Utilizando-se equipamento analógico portátil monocanal (Ecafex®, modelo-6) com registro em papel termossensível, sendo os cães posicionados em decúbito lateral direito com o registro das derivações bipolares I, II, III; as unipolares aVR, aVL e aVF; e as precordiais CV₅RL, CV₆LL, CV₆LU e V₁₀ em sensibilidade 1cm=1mV com velocidade de 25mm/s. Posteriormente, a derivação bipolar II foi registrada novamente porém em velocidade 50mm/s e a sensibilidade 1cm=1mV, para realização das medidas da duração das ondas e dos intervalos.

Os exames radiográficos foram realizados em equipamento digital pelo Serviço de Diagnóstico por Imagem no Departamento de Cirurgia/HOVET – FMVZ/USP.

Para a realização do exame radiográfico do tórax, foram utilizados dois equipamentos radiológicos (RAY-TEC, 500 mA e 125 kV, modelo RT 500/125 e Tecno Designer, alta frequência, TD 500 HF), ambos com mesa radiológica portando grade antidifusora. Foram realizadas radiografias computadorizadas utilizando-se o sistema de radiografia computadorizada Fuji com leitor de placas de fósforo FCR cápsula X e cassetes com placas de fósforo como detector de raios X. Este equipamento possui uma estação de trabalho Synapse com servidor Dell Power Edge 840 para identificação e controle de qualidade: CR CONSOLE LITE, e um monitor LCD de 21" colorido. O armazenamento e o gerenciamento das imagens

foram realizados com o sistema PACS que permite a análise qualitativa e quantitativa e processamento posterior das imagens em estação de laudos adequada (computador).

Para exame radiográfico os animais foram posicionados em decúbito lateral direito (projeção látero-lateral direita), decúbito lateral esquerdo (projeção látero-lateral esquerda) e decúbito dorsal (projeção ventro-dorsal), com a realização de, no mínimo, três projeções. As radiografias torácicas foram avaliadas subjetivamente e pelo método VHS (Vertebral Heart Size), propostas por BUCHANAN; BÜCHELER (1995).

Para a realização dos exames ecodopplercardiográficos transtorácicos, os animais foram posicionados em decúbito lateral por meio de contenção manual, sem sedação ou anestesia, conforme recomendações da *American Society of Echocardiography*, com modificações sugeridas por Chetboul (2002) e Boon (2011), utilizando o equipamento GE® modelo Vivid i, nos modos bidimensional, M, Doppler (pulsado, contínuo e colorido) e Doppler tecidual com registro simultâneo do ECG. Os exames ecodopplercardiográficos foram gravados para posterior análise. Todas as medidas foram feitas por um pesquisador treinado sem acesso às informações sobre a identificação dos cães, manifestações clínicas, radiografias torácicas e estado hemodinâmico do paciente avaliado.

5.4 COLHEITA DE MATERIAL

Foi coletado sangue para realização de análises laboratoriais: hemograma (eritograma e leucograma) com contagem de plaquetas, dosagem sérica de creatinina, uréia, proteínas totais, albumina e atividade da alaninoaminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina (FA), glicemia, teste sorológico rápido qualitativo (erliquiose, anaplasmoses, borreliose) e dirofilariose pelo kit *Snap 4DX plus test* IDEXX®. Amostras hemolisadas foram descartadas.

Coletou-se sangue por venipunção jugular e as amostras foram aliquotadas em tubo seco e com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). As amostras de sangue foram homogeneizadas e encaminhadas diretamente para o laboratório de processamento. As alíquotas destinadas à determinação de CRP foram

armazenadas em frasco tipo “*ependorf*” e mantidas sob refrigeração à temperatura de -80°C até o processamento.

5.5 EXAMES LABORATORIAIS

Após a anamnese e exame físico, foram realizados exames laboratoriais para a avaliação da condição de saúde e avaliação dos marcadores propostos.

HEMOGRAMA

A avaliação hematológica foi realizada por contador eletrônico, para uso veterinário, do fabricante Siemens®, modelo ADVIA 210i. O hematócrito foi determinado por meio de tubos microcapilares. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada por microscopia óptica do esfregaço sanguíneo, conforme rotina do Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/Hospital Veterinário da FMVZ-USP.

BIOQUÍMICA

A avaliação da função renal e perfil hepático seguiram as técnicas rotineiras empregadas no Serviço de Laboratório Clínico do Departamento de Clínica Médica/HOVET- FMVZ- USP. A glicemia foi aferida por meio de glicosímetro (ACCU-CHECK® – Advantage Roche), no momento da coleta.

PROTEÍNA C REATIVA

Para determinar a concentração sérica de CRP utilizou-se teste comercial (*PhaseTM Range Canine C- reactive Protein Assay, Tridelta Development Limited*, Irlanda) que consiste na técnica de imunoensaio “*enzyme linked immunosorbent assay*” - ELISA, realizado em placa, contendo anticorpos antiproteína C reativa canina.

As amostras foram mantidas congeladas à temperatura de -80°C até o momento da análise. O soro foi diluído na proporção de 1: 500, (mistura de 100µL de soro homogeneizado para cinco mL do tampão diluente) em tubos de vidro, antes do ensaio, seguindo recomendações do fabricante. Para amostras nas quais não se detectou dosagem de CRP, realizou-se nova diluição na proporção de 1:200 ou 1:100, seguida de nova leitura. Na sequência alíquotas de 100µL do soro diluído foram adicionadas a em cada poço e incubadas por 15 minutos a 37°C. Depois da remoção do excesso da amostra tampão em lavadora automática (quatro ciclos de lavagem), acresciam-se à placa 100µL de conjugado (anticorpo antiproteína C reativa canina marcado com “*Horse Radish Peroxydase*”- HRP), para, posteriormente, nova incubação por 15 minutos a 37°C. Após lavagem, adicionou-se 100µL de substrato de tetrametilbenzidina (TMB) a fim de promover reação colorimétrica com a peroxidase; a placa foi mantida por 15 minutos, à temperatura ambiente. A solução de bloqueio (100µL/poço) encerrava a reação.

A leitura de absorbância das amostras a 450nm foi conduzida em leitora de ELISA Biotek® Elx808 associada ao software de análise Gen5 (Biotek®). Obtinha-se uma média de duas absorbâncias geradas de cada amostra e cada controle e subtraía-se o valor de absorbância proporcionado pela amostra controle nulo, o qual não continha CRP. Um gráfico de dispersão com as absorbâncias com dos controles e as respectivas concentrações de CRP (nulo, 7,5ng/mL, 15ng/mL, 30ng/mL, 60ng/mL e 120ng/mL) delineava uma curva de formação para interpolar as absorbâncias das amostras. Para obter a concentração de CRP, multiplicava-se o valor resultante do gráfico pelo valor da diluição da amostra (20,100 ou 500).

Três amostras-controle com concentração de CRP com baixa (grupo controle), intermediária (estágio B2) e alta (estágio D) concentrações de CRP foram selecionadas para a validação do kit na presente população estudada em busca da avaliação da acurácia e precisão dos resultados (FOX et al., 2015). O kit *PhaseTM Range Canine C- reactive Protein Assay, Tridelta Development Limited* selecionado foi previamente padronizado para a espécie canina (FRANSSON et al., 2007;

MERLO et al., 2007). Os controles selecionados apresentaram concentrações séricas médias de 663,43ng/mL, 12.298,16ng/mL e 21.376,16ng/mL, respectivamente. As amostras foram analisadas e mensuradas em duplicata por três ensaios realizados em dias diferentes, totalizando seis replicatas por controle. Os coeficientes de variação intra-ensaio (repetibilidade) foram de 5,22%, 1,25% e 3,38% e os coeficientes inter-ensaio (reprodutibilidade) foram de 8,32%, 6,32% e 7,53% em conformidade com nível de aceitação da comunidade científica que preconiza que os coeficientes de variação de ensaios laboratoriais devem-se apresentar abaixo 15% (BANSAL; DESTEFANO, 2007; GEDDES et al.; 2013).

6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Realizou-se análise estatística descritiva, com medidas de posição e dispersão. Determinou-se frequências para variáveis categóricas, média, mediana, moda e os percentis 25 (P_{25}) e 75 (P_{75}) para variáveis contínuas. Os dados foram testados para normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk ($P \geq 0,05$). Para as variáveis com distribuição normal (HEM, Hg, Ht, VCM, HCM), suas médias foram comparadas pelo teste de ANOVA, com pós-teste de Tukey, e para aqueles sem distribuição normal (CHCM, RDW, CRP), suas medianas foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Para definir a significância estatística utilizou-se valor de $p < 0,05$.

A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS 22.0, Microsoft Windows.

A magnitude da correlação (entre CRP e RDW e CRP e número de Leucócitos e Neutrófilos) foi classificada como fraca ($r < 0,30$), moderada ($0,30 \leq r < 0,60$), forte ($0,60 \leq r < 0,90$) e muito forte ($0,90 \leq r < 1$), conforme CALLEGARI-JACQUES (2003).

7 RESULTADOS

Dos 141 cães incluídos no estudo, 63 eram fêmeas (44,6%) e 78 machos (55,2%), com idade média de 9,4 anos.

Quanto à distribuição racial, os cães sem raça definida (SRD) foram os mais representados (33,3%) seguidos pela raça Poodle (26,2%), Dachshund (6,4%), Yorkshire (5,7%), Shih-tzu e Maltes (5,0% cada), Pinscher (3,5%), Lhasa apso (3,5%), Whippet e Schnauzer (2,1% cada); Spitz alemão, Beagle, Cairn terrier (1,4%) e por fim, Fox paulistinha, Bulldog francês e Cocker spaniel (0,7% cada). Demais dados demográficos encontram-se descritos na tabela 2.

Os cães em estágio A (controle) eram significativamente mais jovens (Tabela 2). Houve diferença estatística entre os grupos em relação ao peso, FC, FR, PAS e VHS. Os demais dados demográficos, achados históricos, resultados de exame físico e ECG encontram-se resumidos na tabela 2.

Quando os cães foram alocados quanto à presença de ICC, notou-se maior número de hemácias no grupo controle em relação aos cães portadores de DVDCM (com e sem ICC) ($P < 0,0001$). O grupo com ICC apresentou índices de hemoglobina menores que os grupos controle e sem ICC ($P < 0,0001$). Em relação ao hematócrito o grupo controle apresentou valores maiores ($55,2\% \pm 5,8$) do que o grupo com DVDCM (sem ICC: $48,8\% \pm 5,5$; com ICC: $46,4\% \pm 6,6$) ($P < 0,0001$) (Tabela 3).

Não houve diferença em relação ao RDW entre os grupos estudados quanto à presença de ICC.

O grupo com ICC ($2.939,7 \text{ ng/mL}$, $P_{25\%-75\%} = 1.304,2 - 5.908,8 \text{ ng/mL}$) apresentou maiores valores de CRP quando comparados ao grupo controle ($1.685,5 \text{ ng/mL}$, $P_{25} = 1.1015,4$; $P_{75} = 3.795,5 \text{ ng/mL}$) (Tabela 2).

Tabela 1- Dados demográficos e resultados dos achados do histórico, exame físico, aferição da PAS, VHS e ECG realizados em 141 cães distribuídos conforme o estágio da DVDCM

	ESTÁGIO A	ESTÁGIO B1	ESTÁGIO B2	ESTÁGIO C	ESTÁGIO D	Valor de P
N	54	30	22	25	11	
Idade (anos)	7,0±1,8 ^a	10,1±2,6 ^b	10,3±2,8 ^b	11,4±2,2 ^b	12,2±1,6 ^b	0,01
Peso (kg)	8,8 (5-13) ^a	7,2 (4,7-11,1) ^{ab}	4,9 (3,5-8,8) ^b	5,6 (3,5-9,3) ^b	4,4 (3,6-10,1) ^{ab}	0,003
Sexo (F:M)	31:23	15:15	9:13	7:18	1:10	
FC (bpm)	130 (108-140) ^a	110 (100-140) ^a	116 (100-140) ^{ab}	140 (135-160) ^b	149 (134-162) ^{ab}	<0,001
FR (mrm)	28 (20-36) ^a	32 (26-40) ^{ab}	30 (16-37) ^{ab}	40 (35-60) ^b	36 (31-44) ^{ab}	0,002
PAS (mmHg)	141±22 ^a	142±19 ^a	141±28 ^{ab}	124±19 ^b	130±22 ^{ab}	0,001
VHS	9,8 (9,5-10,3) ^a	10 (9,5-10,5) ^a	10,8 (10,5-11,6) ^b	11,9 (11,2-12,7) ^b	12,6 (11,5-13,5) ^b	0,001

Legenda: Medianas (P₂₅ - P₇₅) para dados contínuos e número (N) ou porcentagem (%) para os dados de frequência. SRD: sem raça definida; *Moda; PAS: pressão arterial sistólica; RS: Ritmo sinusal. Medianas seguidas por letras sobrescritas distintas, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Dunn (P<0,05).

Tabela 2- Variáveis hematológicas e CRP encontradas em 141 cães alocados conforme presença de ICC em cães portadores de DVDCM

	Controle	Sem ICC (B1 e B2)	Com ICC (C e D)	Valor P
He ($\times 10^6$ u/L)	7,7 $\pm$ 0,8 ^a	7,2 $\pm$ 0,8 ^b	7,0 $\pm$ 0,9 ^b	<0,0001
Hb (g/dL)	17,9 $\pm$ 2,0 ^a	17,0 $\pm$ 2,2 ^a	15,8 $\pm$ 2,3 ^b	<0,0001
Ht (%)	52,2 $\pm$ 5,8 ^a	48,8 $\pm$ 5,5 ^b	46,4 $\pm$ 6,6 ^b	<0,0001
VCM (fL)	66,3 $\pm$ 7,3	67,2 $\pm$ 3,3	66,5 $\pm$ 3,7	0,692
HCM (pg)	23,1 $\pm$ 1,4	23,2 $\pm$ 1,0	22,6 $\pm$ 1,3	0,064
CHCM* (%)	35(33,7-35)	34(34-35)	24(33,25-25)	0,752
RDW* (%)	12,9 (11,9-13,4)	12,4 (11,8-13,47)	13,05 (12,14-14)	0,146
CRP* (ng/mL)	1.685,5 (1.1015,4-3.795,5) ^b	1.047,4 (584,0-2.343,0) ^{ab}	2.939,7 (1.304,2-5.908,8) ^a	0,03

Legenda: Média ($\pm$ intervalo padrão); médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Dunn ($p < 0,05$). *Medianas (P_{25} - P_{75}); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média, Hb: hemoglobina, HCM: hemoglobina corpuscular média He: número de hemácias, Ht: hematócrito, VCM: volume corpuscular médio, ICC: Insuficiência Cardíaca Congestiva, RDW: amplitude de distribuição das hemácias, CRP: Proteína C-reativa,

As variáveis hematológicas também foram avaliadas conforme o estágio da DVDCM (segundo classificação ACVIM). Os cães pertencentes ao estágio A apresentaram distribuição normal e valores significativamente maiores do número de hemácias ($7,7 \times 10^6$ u/L $\pm 1,0$) quando comparados aos do estágio B1 ($7,4 \times 10^6$ u/L $\pm 0,9$), B2 ($7,0 \times 10^6$ u/L $\pm 0,7$), C ($7,0 \times 10^6$ u/L $\pm 1,1$) e D ($6,9 \times 10^6$ u/L $\pm 0,5$) ($P < 0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 3- Variáveis hematológicas e CRP encontradas em 141 cães distribuídos conforme o estágio da DVDCM

	Estágio A	Estágio B1	Estágio B2	Estágio C	Estágio D	P
He ($\times 10^6$ /L)	7,7 $\pm$ 1,0 ^a	7,4 $\pm$ 0,9 ^b	7,0 $\pm$ 0,7 ^b	7,0 $\pm$ 1,1 ^b	6,9 $\pm$ 0,5 ^b	<0,0001
Hb (g/dL)	18,0 $\pm$ 2,0 ^a	17,3 $\pm$ 2,0 ^{ab}	16,7 $\pm$ 2,8 ^{abc}	16,2 $\pm$ 2,6 ^{bc}	15,1 $\pm$ 1,1 ^c	<0,0001
Ht (%)	52,2 $\pm$ 5,8 ^a	49,6 $\pm$ 5,3 ^{ab}	47,7 $\pm$ 5,7 ^{bc}	47,8 $\pm$ 7,4 ^{bc}	43,3 $\pm$ 3,2 ^c	<0,0001
VCM (fL)	66,3 $\pm$ 7,3	66,8 $\pm$ 3,3	67,6 $\pm$ 3,3	68,0 $\pm$ 3,1	63,2 $\pm$ 4,0	0,115
HCM (pg)	23,1 $\pm$ 1,4 ^a	23,3 $\pm$ 1,0 ^a	23,1 $\pm$ 1,0 ^{ab}	22,3 $\pm$ 1,3 ^{ab}	22,0 $\pm$ 0,9 ^b	0,03
CHCM (%)*	34 (33,75-35)	35 (34-35)	34(33-35)	34(33-34,50)	34(34-35)	0,783
RDW* (%)	12,9 (11,9-13,4)	12,4 (11,8-13,5)	12,4 (11,75-13,4)	13,35 (11,35-14,2)	12,8 (11,7-14)	0,255
CRP* (ng/mL)	1.685,5 (1.015,45- 3.795,5)	1.138,3 (618,92- 2.602,5)	909,9 (478,52- 2.644,2)	2.251 (962,05- 5.292,5)	3.628,4 (1.592,3- 6.254,5)	0,014

Legenda: Média ($\pm$ intervalo padrão); médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Dunn ($p < 0,05$). *Medianas (P_{25} - P_{75}); CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média, Hb: hemoglobina, HCM: hemoglobina corpuscular média, He: número de hemácias, Ht: hematócrito, VCM: volume corpuscular médio, RDW: amplitude de distribuição das hemácias, CRP: Proteína C- reativa.

Em relação à concentração de hemoglobina, o grupo A (18,0 g/dL $\pm$ 2,0) apresentou valores maiores do que os grupos C (16,2 g/dL $\pm$ 2,6) e D (15,1 g/dL $\pm$ 1,1) ($P < 0,0001$). Quanto ao hematócrito, o grupo A apresentou valor maior (52,2% $\pm$ 5,8) quando comparado aos grupos B2 (47,7% $\pm$ 5,7), C (47,8% $\pm$ 7,4), e D (43,3% $\pm$ 3,2) ($P < 0,0001$). Quanto aos índices hematimétricos, o grupo A (66,3 fL $\pm$ 7,3) diferiu dos demais grupos (B1: 66,8 fL $\pm$ 3,3; B2: 67,6 fL $\pm$ 3,3; C: 68,0 fL $\pm$ 3,1; e D: 63,2 fL $\pm$ 4,0, $P = 0,115$) em relação ao VCM. Para o HCM, os grupos A (23,1pg $\pm$ 1,4) e B1 (23,3pg $\pm$ 1,0) foram semelhantes entre si, e, apresentaram valores maiores que o grupo D (22,0pg $\pm$ 0,9) ($P = 0,003$). Os grupos estudados não apresentaram diferença entre si em relação ao CHCM e RDW.

Quanto ao CHCM e RDW, os grupos estudados não apresentaram diferença entre si.

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à CRP, porém o pós teste de Dunn não foi capaz de identificar a diferença ($P = 0,014$) (Figura 2).

Figura 2- Box Plot (mediana, P_{25} e P_{75} , mínimo e máximo). A: comparação dos níveis de CRP em cães nos estágios A, B1, B2, C e D da DVDCM. B: comparação dos níveis de CRP em cães do grupo controle e cães com DVDCM que foram alocados quanto à presença ou não de ICC. C: comparação dos valores de RDW em cães nos estágios A, B1, B2, C e D da DVDCM. D: comparação dos valores de RDW em cães do grupo controle e cães com DVDCM que foram alocados quanto à presença ou não de ICC.

Quando os indivíduos foram estratificados quanto à presença (estágios B2, C e D) ou não (estágios A e B1) de remodelamento, apesar de não ter sido observada diferença entre os grupos, o valor de P ficou próximo de atingir significância ($P=0,078$). O grupo com remodelamento apresentou valores maiores de CRP que o grupo sem remodelamento (Tabela 4).

Tabela 4- Valores de RDW e CRP quanto à presença de remodelamento

	Sem remodelamento	Com remodelamento	P
RDW	12,9 $\pm$ 1,7	13,2 $\pm$ 1,7	0,078
CRP	2.510,7 $\pm$ 3.268,4	4.916,6 $\pm$ 6.102,1	0,009

Legenda: Média ($\pm$ intervalo padrão); médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Dunn ($p<0,05$). RDW: amplitude de distribuição das hemácias, CRP: Proteína C- reativa,

Tabela 5- Número de leucócitos e neutrófilos nos estágios da DVDCM

	Estágio A	Estágio B1	Estágio B2	Estágio C	Estágio D
Leucócitos*	8.700 (7.640-10.175)	9.205 (7.595-10.175)	8.305 (6.358-10.973)	10.780 (7.735-13.460)	9.890 (7.200-11.900)
Neutrófilos*	5.822 (4.726-7.420)	6.260 (5.230-7.554)	5.185 (3.995-7.842)	7.640 (5.375-10.772)	6.230 (5.040-9.630)

Legenda: *Medianas (P_{25} - P_{75}).

Figura 3- Box Plot (mediana, P25 e P75, mínimo e máximo) A: Distribuição do RDW quanto à presença de remodelamento. B: Distribuição do CRP quanto à presença de remodelamento.

Por fim, avaliou-se a existência de correlação entre o número de leucócitos e neutrófilos com os níveis séricos de CRP e, entre os valores de RDW e CRP. Desta forma, houve somente correlação positiva e fraca ($r=0,197$; $P=0,019$) entre CRP e número leucócitos (Tabela 6). Não houve correlação significativa entre CRP e RDW ($r= 0,153$; $P=0,07$) nem entre CRP e número total de neutrófilos ($r=0,152$; $P=0,072$).

Figura 4- Correlação entre os níveis séricos de CRP e o número de leucócitos.

8 DISCUSSÃO

Avaliando-se os dados demográficos, notou-se que os cães do grupo controle eram mais jovens em relação aos demais grupos, o que está de acordo com a história natural da DVDCM, que para a maioria das raças de pequeno porte, acomete cães de idade mais avançada (OLSEN et al., 2010) e também encontrado em estudo semelhante (GUGLIELMINI et al., 2013) Quanto ao peso, notou-se diferença estatística entre os grupos, mas sem importância clínica uma vez que estavam na faixa de peso de cães de pequeno porte, utilizada como critério de inclusão.

Como esperado, observou-se que o grupo C apresentou FC mais elevada em relação ao controle e B1, mas não foi diferente de B2 e D. Esperava-se o mesmo para o grupo D, porém este não atingiu diferença significativa entre os grupos possivelmente por ser representado somente por 11 cães e os valores de FC apresentaram ampla variação nos grupos. O mesmo ocorreu em relação à FR.

Indivíduos do grupo controle e estágio B1 apresentaram valores menores de VHS quando comparados ao grupo B2, C e D, fato esperado uma vez que nestes estágios há o desenvolvimento de remodelamento cardíaco e consequentemente cardiomegalia, corroborando com o estudo de Soares et al., (2004), que concluiu que o aumento VHS teve boa correlação com a progressão da DVDCM, sendo este critério utilizado no estadiamento da doença.

Em medicina humana o uso do RDW está sendo considerado como potencial ferramenta para auxiliar na avaliação do prognóstico em pacientes com ICC (TANG et al., 2006; HUANG et al., 2014; TSELIU, et al., 2014). Em medicina veterinária a literatura é bastante escassa quanto à avaliação de parâmetros hematológicos em cães portadores de DVDCM (GUGLIELMINI et al., 2013).

Na população incluída no presente estudo não houve diferença significativa para os valores de RDW em cães com DVDCM, quando alocados conforme estadiamento, quanto à presença de ICC ou quanto à presença de remodelamento. Desta forma, depreende-se que na população estudada, não houve associação entre valores de RDW e a progressão da DVDCM, fato também observado no estudo retrospectivo com 162 cães conduzido por Guglielmini et al. (2013). Embora

os resultados sejam semelhantes ao apresentado no presente estudo, o realizado por Guglielmini et al. (2013), foi baseado numa população mais heterogênea, que incluiu cães de grande porte (Pastor Alemão, Setter Inglês). Deve-se considerar, no entanto que, quando se avaliou os grupos em relação ao remodelamento, apesar de não haver diferença significativa a 5%, esta existe a 10% ($P=0,078$). Neste caso, considerando-se ser este um estudo de caráter exploratório, pode-se tratar de erro tipo II, em função de menor poder estatístico de encontrar diferença considerando o tamanho amostral tamanho amostral. Outra possibilidade é de que realmente não exista diferença nesta população pelo fato da população incluída não apresentar comorbidades, que eram critério de exclusão.

Diferentemente, na medicina humana, estudos clínicos evidenciaram que indivíduos com ICC apresentaram associação entre aumento do RDW e mortalidade (FELKER et al., 2007; FÖRHÉCZ, et al., 2009). Em uma meta-análise recente, foram avaliados 17 trabalhos do tipo coorte, totalizando 18.288 indivíduos e constataram que o aumento de um por cento no RDW em pacientes com ICC está relacionado com aumento de 10% de mortalidade (HUANG et al., 2014).

Estudos clínicos realizados em medicina humana sugerem alguns potenciais mecanismos envolvidos no aumento do RDW em pacientes com ICC. Trabalho realizado por Allen et al. (2010) aponta possível envolvimento de citocinas inflamatórias mediando o metabolismo do ferro sugerindo quadro de anemia da inflamação crônica. Outro mecanismo potencialmente envolvido seria o atraso do *clearance* de eritrócitos senescentes secundário a uma diminuição da atividade hematopoiética (PATEL et al., 2015).

No presente estudo, cães acometidos com DVDCM (sejam estratificados quanto à presença e ausência de ICC, e quanto ao estágio da doença) apresentaram menor número de hemácias frente aos indivíduos do grupo controle, embora os valores ainda estivessem dentro do intervalo de referência para a espécie em todos os grupos. Ademais, supõe-se que os cães com ICC (grupos C e D), apesar da condição de possível hipervolemia em decorrência dos mecanismos compensatórios, podem apresentar hemoconcentração, pelo uso de diuréticos (OH et al., 2013; VADUGANATHAN et al., 2014), já que os cães incluídos estavam em condição estável com a terapia quando incluídos no estudo. E, portanto, podem ter, na verdade, um número ainda menor de hemácias em relação aos outros grupos.

A literatura humana refere que a presença de anemia é comum, mas com prevalência variando de 4% a 61% entre pacientes com IC (FELKER et al., 2004; TANG et al., 2006; ANAND, 2008). Esta inconsistência deve-se provavelmente à variação na definição de anemia em diferentes estudos (ou seja, variação no valor de corte no hematócrito ou concentração de hemoglobina para considerar como anemia). Além disso, comorbidades têm um papel importante, com maior prevalência entre pacientes com sintomas mais graves, doença renal, e idade mais avançada (TANG et al., 2006).. Mecanismos potencialmente envolvidos no desenvolvimento de anemia na ICC envolvem hemodiluição, ativação de citocinas inflamatórias, acometimento da função renal e desnutrição (FELKER et al., 2004). Estudo experimental realizado em cães não anêmicos com ICC demonstrou que o uso de estimuladores da eritropoiese preveniu a progressão do remodelamento cardíaco e a disfunção ventricular, sugerindo que o uso de estimuladores da eritropoiese tem ação que diminui a apoptose de cardiomiócitos e hipóxia, retardando a progressão da ICC (RASTOGI et al., 2008).

É possível que a ICC causada por DVDCM não esteja associada, por si, a um aumento do RDW, mas que, quando associada à comorbidades como a doença renal, ou desnutrição secundária, haveria o aumento do RDW pela diminuição da capacidade hematopoiética, seja por deficiência de eritropoietina ou outros fatores, e redução do *clearance*, com permanência de hemácias senescentes (PATEL et al., 2015). No entanto, em pacientes humanos com ICC aguda, observou-se relação entre RDW e aumento da relação E/E', ou seja, relação entre a velocidade de enchimento ventricular inicial e a velocidade miocárdica correspondente ao início do relaxamento ventricular, sugerindo associação entre aumento da pressão de enchimento ventricular e RDW (OH et al., 2009), e portanto, de ICC.

Frente ao possível papel das proteínas inflamatórias na progressão da DVDCM, a CRP é considerada o principal representante de proteína de fase aguda, e tem sido amplamente utilizada como marcador de inflamação (CERÓN et al., 2005). Existem poucos e conflitantes estudos na veterinária que estudam a CRP em cães com DVDCM. No presente estudo, o grupo com ICC (C+D) apresentou valores maiores de CRP quando comparado ao grupo controle ($P=0,003$). Quando estratificados quanto à presença de remodelamento, o grupo com remodelamento apresentou valores significativamente maiores de CRP do que o grupo sem remodelamento ($P=0,009$).

Os resultados deste estudo são semelhantes aos do estudo publicado em 2006, que concluiu que cães portadores de DVDCM apresentaram maiores níveis de CRP (2.170 ng/mL) do que cães saudáveis (1.430 ng/mL) (RUSH et al., 2006).

Controversamente, estudo realizado em 2010 não detectou diferença entre os níveis de CRP em cães sadios comparados com cães portadores de DVDCM (LJUNGVALL et al., 2010). No entanto, os autores observaram que a CRP explicou 15% da variação da concentração plasmática de cTnI, sugerindo envolvimento de processo inflamatório. A cTnI, medida por teste de alta-sensibilidade, se apresentou mais elevada em cães com DVDCM, em relação ao grupo controle, mesmo em estágios de regurgitação discreta. Cães com regurgitação mitral severa apresentaram concentração plasmática de cTnI significativamente mais elevados que cães com regurgitação discreta e moderada. Nesse estudo, 82,71% dos indivíduos incluídos eram da raça Cavalier King Charles Spaniel. O processo inflamatório associado à variação da concentração de cTnI pode ser secundário à lesão de miócitos (lesão tecidual) que ocorre pela sobrecarga de volume e poderia sugerir a taxa de remodelamento (LJUNGVALL et al., 2010). Não foi do escopo do presente trabalho, a avaliação da cTnI de alta-sensibilidade.

A população incluída no citado foi semelhante à incluída no presente estudo, no que diz respeito ao peso dos cães e quanto ao critério de exclusão de doenças sistêmicas significantes. No entanto, a divisão dos grupos foi feita com base no grau de regurgitação mitral, e não no estadiamento clínico, aqui utilizado. Apesar do grau de regurgitação estar relacionado à progressão da doença e grau de remodelamento, há animais com grau de regurgitação moderado ou importante que podem estar em diferentes estágios da doença. Estudo recente aponta que nenhum dos cães com sopro discreto (i.e., de baixa intensidade) tinha ICC e 90% destes, não apresentavam remodelamento. Ao passo que, 56% dos cães com sopro moderado, 29% dos cães com sopro “alto” e 8% dos cães com sopro de alta intensidade (e presença de frêmito) com DVDCM assintomática também não apresentavam remodelamento (LJUNGVALL et al., 2014).

Considerando que o presente estudo teve excluídos casos com comorbidades que poderiam contribuir para aumentar os níveis séricos de CRP, pode-se sugerir que a ICC causada pela DVDCM apresenta um componente inflamatório em sua progressão, corroborando com o estudo realizado por Rush et al. (2006) e com os achados de Ljungvall et al. (2010).

Por fim, realizou-se correlação dos níveis séricos de CRP com número de leucócitos e neutrófilos. A neutrofilia secundária a inflamação crônica é observada em quadros em que os mediadores inflamatórios estimulam o desenvolvimento de hiperplasia granulocítica levando a uma neutrofilia com magnitude de valores de até 30 mil leucócitos (STOCKHAM & SCOTT, 2008).

No presente estudo obteve-se uma correlação positiva fraca, porém significativa ($r=0,197$; $P=0,019$). Estes resultados se assemelham a um estudo conduzido em 1991 com 265 cães, onde se concluiu que níveis de proteínas de fase aguda (CRP, haptoglobinas e ceruloplasminas) aumentados apresentavam correlação fracamente positiva com número de leucócitos e neutrófilos, sugerindo que as proteínas de fase aguda apresentam atividade mais rápida frente a um estímulo inflamatório comparado às alterações leucocitárias (SOLTER et al., 1991). Desta forma, depreende-se que aparentemente, o processo inflamatório relacionado à ICC na DVDCM é capaz de aumentar a concentração de CRP e pode estimular discreta mas significativamente, a liberação de leucócitos.

Estudos com delineamento voltado a estas questões ainda são necessários com a finalidade de desvendar detalhes na fisiopatologia do processo de progressão da DVDCM e da insuficiência cardíaca.

9 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A principal limitação deste estudo, deve-se ao fato de tratar-se de estudo observacional transversal de caráter exploratório, em uma população pré-selecionada com restritos critérios de inclusão e exclusão, não havendo comorbidades que são comuns em cães na faixa etária que compreende a ocorrência de ICC, e que não são excluídas nos estudos em humanos. Pelo fato deste estudo não ter sido delineado e dimensionado para o estudo específico destas variáveis, o tamanho amostral pode ter contribuído para o resultado negativo em relação ao RDW, por não apresentar poder adequado para detectar diferença, conforme foi comentado na discussão. Além disso, sendo um estudo transversal, não é possível avaliar a associação entre as variáveis estudadas e mortalidade.

Acredita-se que achados semelhantes ao relatado em pacientes humanos com ICC em relação ao RDW, possam ainda ocorrer em cães com ICC avançada e que apresentam comorbidades, como doença renal concomitante, doenças respiratórias, hepáticas ou neoplasias. Desta forma, a não comprovação da hipótese por ausência de diferença significativa esperada não deve implicar no abandono da pesquisa nesta área, mas sim prosseguir com estudo clínico longitudinal, incluindo maior número de cães com ICC e sem critérios muito restritos em relação à comorbidades, com o objetivo de aproximar mais da população real.

10 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e discutidos neste estudo, conclui-se que:

- 1) Não foi detectada diferença significativa quanto ao RDW entre cães sadios e portadores de DVDCM, seja na comparação entre presença ou ausência de ICC; com ou sem remodelamento ou entre os diferentes estágios de evolução, na população estudada.
- 2) A concentração sérica de CRP foi maior nos cães com remodelamento cardíaco em relação àqueles sem remodelamento.
- 3) A concentração sérica de CRP foi maior nos cães com ICC em relação àqueles sem ICC e àqueles de raças predispostas, mas sem alterações cardíacas.
- 4) A concentração de CRP foi significativamente diferente entre os estágios da DVDCM, apesar de não ter sido possível se detectar quais os estágios que diferem entre si.
- 5) Há correlação fraca significativa entre o número de leucócitos e a concentração de CRP.
- 6) A dosagem sérica de CRP juntamente com outros marcadores e exames complementares já utilizados rotineiramente, poderá ser útil na avaliação e acompanhamento de pacientes portadores de DVDCM.
- 7) Para futuras investigações, sugere-se estudos prospectivos longitudinais em cães portadores de DVDCM com painel de biomarcadores cardíacos juntamente com dosagem sérica de CRP e RDW para avaliação do poder prognóstico desses marcadores.

REFERÊNCIAS

ANAND, I. Anemia and chronic heart failure. *Journal of American College of Cardiology*, v. 52, n. 7, p. 501-511, 2008.

ANAND, I.; MCMURRAY, J.J.; WHITMORE, J.; WARREN, M.; MCCAMISH, M.A.; BURTON, P.B.J. Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure. *Circulation*, n. 110, p. 149 –154, 2004.

ALLEN, A.; FELKER, G. M.; EHRA, M. R.; CHIONG, J. R.; DUNLAP, S. H.; GHALI, J. K.; LENIHAN, D. J.; OREN, R. M.; WAGONER, L. E.; SCHWARTZ, T. D.; ADAMS JR; K .F. Validation and Potential Mechanisms of Red Cell Distribution Width as a Prognostic Marker in Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure*, v. 16, n. 3, p. 230-238, 2010.

ALONSO-MARTINEZ, J. L.; LLORENTE-DIEZ, B.; ECHEGARAY-AGARA, M.; OLAZ-PRECIADO, F.; URBIETA-ECHEZARRETA, M.; GONZALEZ-ARENCIBIA, C. C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure. *European Journal of Heart Failure*, v. 4, n. 3, p. 331-336, 2002.

ATKINS, C.; BONAGURA, J.; ETTINGER, S.; FOX, P.; GORDON, J.; HÄGGSTRÖM, J.; HAMLIN, R.; KEENE, B.; LUIS-FUENTES, V.; STEPIEN, R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 26, p. 1142-1150, 2009.

BANSAL, S.; DESTEFANO, A. Key Elements of Bioanalytical Method Validation for Small Molecules. *The AAPS Journal*, v. 9 n. 1, p. 109-114, 2007.

BEARDOW, A. W.; BUCHANAN, J. W. Chronic mitral valve disease in Cavalier King Charles spaniels: 95 cases (1987e1991). *Journal of American Veterinary Medical Association*, v. 203, n. 7, p. 1023-1029, 1993.

BOON, J. A. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: BOON, J. A. *Veterinary echocardiography*, 2. ed. New Jersey: J. Willey, p. 151-260, 2011.

BORGARELLI, M.; BUCHANAN, J. W. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology*, v. 14, n. 1, p. 91-101, 2012.

BORGARELLI, M.; HÄGGSTRÖM, J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history, clinical presentation and therapy. **Veterinary Clinics of North American Small Animal Practice**, v. 40, n. 4, p. 651-663, 2010.

BORGARELLI, M.; SAVARINO, P.; CROSARA, S.; SANTILI, R. A.; CHIAVEGATO, D.; POGGI, M.; BELLINO, C.; LA ROSA, G.; ZANATTA, R.; HÄGGSTRÖM, J.; TARDUCCI, A. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 1, p. 120-128, 2008.

BROWN, S.; ATKINS, C.; BAGLEY, R.; CARR, A.; COWGILL, L.; DAVIDSON, M.; EGNER, B.; ELLIOTT, J.; HENIK, R.; LABATO, M.; LITTMAN, M.; POLZIN, D.; ROSS, L.; SNYDER, P.; STEPIEN, R. Guidelines for the Identification, Evaluation, and Management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 3, p. 542–558, 2007.

BUCHANAN, J. W.; BÜCHELER, J. Vertebral scale system to measure canine heart size in radiographs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 2, p. 194-199, 1995.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artemed, 2003. 255p.

CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p. 85–99, 2005.

CECILIANI, F.; GIORDANO, A.; SPAGNOLO, V. The systemic reaction during inflammation: the acute phase proteins. **Protein and Peptide Letters**, v. 9, n. 3, p. 211–223, 2002.

CHETBOUL, V. Tissue Doppler imaging: a promising technique for quantifying regional myocardial function. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 4, n. 2, p. 7-12, 2002.

CHETBOUL, V.; TISSIER, R.; VILLARET, F.; NICOLLE, A.; DE'NA, E.; BENALLOUL, T.; POUCHOLON, J. L. Epidemiological, clinical, echo- Doppler characteristics of mitral valve endocardiosis in Cavalier King Charles in France: a retrospective study of 451 cases (1995 to 2003). **Canadian Veterinary Journal**, v. 45, n. 12, p. 1012-1015, 2004.

CHIAVEGATO, D.; BORGARELLI, M.; D'AGNOLO, G.; SANTILLI, R.A. Pulmonary hypertension in dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 50, n. 3, p. 253-258, 2009.

CLARKE, K.; SAGUNARTHY, R.; KANSAL, S. RDW as an additional marker in inflammatory bowel disease/undifferentiated colitis. **Digestive Disease and Science**, v. 53, n. 9, p. 2521-2523, 2008.

COHN, J. N.; TOGNONI, G. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. **New England Journal Medicine**, v. 345, p. 1667-75, 2001.

CONNER, J. G.; ECKERSALL, P. D. Acute phase response in the dog following surgical trauma. **Research in Veterinary Science**, v. 45, n. 1, p. 107–110, 1988.

CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N.H. Acute Phase Response in Animals: A Review. **Comparative Medicine**, v. 59, n. 6, 2009.

CUNNINGHAM, S. M.; RUSH, J. E.; FREEMAN, L. M. Systemic Inflammation and Endothelial Dysfunction in Dogs with Congestive Heart Failure. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 3, p. 547–557, 2012.

DE MADRON, E.; KING, J. N.; WHITE, R. V. Survival and echocardiographic data in dogs with congestive heart failure caused by mitral valve disease and treated by multiple drugs: A retrospective study of 21 cases. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 52, p. 1219-1225, 2011.

DUNCAN & PRASSE' S. **Veterinary Laboratory medicine -clinical pathology**. 4. ed. New Jersey: Wiley-Blackwell.1994. Cap. 1, p.15.

DVORAKOVA, A.; POLEDNE, R. High-sensitivity C-reactive protein— New parameter in cardiovascular risk assessment. **Vnitřní lékařství**, v. 50, n. 11, p. 852–857, 2004.

EDWARD, T. H.; YEH, M. D.; WILLERSON, J. T. Coming of age of C-reactive protein: Using inflammation markers in cardiology. **Circulation**, v. 107, p. 370–372, 2003.

ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Bovine and canine acute phase proteins. **Veterinary Research Communication**, v. 12, n. 2-3, p. 169–178, 1988.

FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004. 807 p.

FELKER, G. M.; ADAMS JR, K. F.; GATTIS, W. A.; O'CONNOR, C. M. Anemia as a risk factor and therapeutic target in heart failure. **Journal of American College of Cardiology**, v. 44, n. 5, p. 959-66, 2004.

FELKER, G. M.; ALLEN, L. A.; POCOCK, S. J.; SHAW, L. K.; MCMURRAY, J. J.; PFEFFER, M. A.; SWEDBERG, K.; WANG, D.; YUSUF, S.; MICHELSON, E. L.; GRANGER, C.B. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. **Journal of American College of Cardiology**, v. 50, n. 1, p. 40-47, 2007.

FOX, P. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 14, n. 1, p. 103-126, 2012.

FOX, P. R.; OYAMA, M. A.; HEZZELL, M. J.; RUSH, J. E.; NGUYENBA, T. P.; DEFRANCESCO, T. C.; LEHMKUH, L. B.; KELLIHAN, H. B.; BULMER, B.; GORDON, S. G.; CUNNINGHAM, S. M.; MACGREGOR, J.; STEPIEN, R. L.; LEBOM, B.; ADIN, D.; LAMB, K. Relationship of Plasma N-terminal Pro-brain Natriuretic Peptide Concentrations to Heart Failure Classification and Cause of Respiratory Distress in Dogs Using a 2nd Generation ELISA Assay, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 1, p. 171–179, 2015.

FÖRHÉCZ, Z.; GOMBOS, T.; BORGULYA, G.; POZSONYI, PROHÁSZKA, Z.; JÁNOSKUTI, L. Red cell distribution width in heart failure: Prediction of clinical events and relationship with markers of ineffective erythropoiesis, inflammation, renal function, and nutritional state. **American Heart Journal**, v. 158, n. 4, p. 659-66, 2009.

FRANSSON, B. A.; KARLSTAM, E.; BERGSTROM, A.; LAGERSTEDT, A. S.; PARK, J. S.; EVANS, M. A.; RAGLE, C. A. C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. **Journal of American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 5, p. 391–399, 2004.

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

FRENCH, A. N.; OGDE, R.; ELAND, C.; HEMAN, G.; PONG-WONG, R.; CORCORAN, B.; SUMMERS, K.M. Genome-wide analysis of mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. **The Veterinary Journal**, v. 193, p. 283-289, 2012.

FOURNIER, T.; NAJET MEDJOUBI, N.; PORQUET, D. Alpha-1-acid glycoprotein: review. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1482, v. 1-2, p. 157–171, 2000.

GOLDBERG, N.; LUNDIN, A.P.; DELANO, B.; FRIEDMAN, E. A.; STEIN, R. A. Changes in left ventricular size, wall thickness, and function in anemic patients treated with recombinant human erythropoietin. **American Heart Journal**, v. 124, n. 2, p. 424 –7, 1992.

GEDDES, R. F.; FINCH, N.C; ELLIOTT, J.; SYME, H. M. Fibroblast Growth Factor 23 in Feline Chronic Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 2, p. 234-241, 2013.

GOUNI, V.; SERRES, F.; POUCHELON, J. L.; TISSIER, R.; LEFEBVRE, H. P.; NICOLLE, A. P.; SAMPEDRANO C.; CHETBOUL, V. Quantification of mitral valve regurgitation in dogs with degenerative mitral valve disease by use of the proximal isovelocity surface área method. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 231, n. 3, p. 399-406, 2007.

GUGLIELMINI, C.; POSER, H.; DALLA PRIA,; DRIGO, M.; MAZZOTTA, E.; BERLANDA, M.; LUCIANI, A. Red blood cell distribution width in dogs with chronic degenerative valvular disease. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 6, p. 858-862, 2013.

HABER, H. L.; LEAVY, J. A.; KESSLER, P. D.; KUKIN, M. L.; GOTTLIEB, S. S.; PACKER, M. The erythrocyte sedimentation rate in congestive heart failure. **New England Journal of Medicine**, v. 324, p. 353–358, 1991.

HÄGGSTRÖM, J.; BOSWOOD, A.; O'GRADY, M.; JONS, O.; SMITH, S.; SWIFT, S.; BORGARELLI, M.; GAVAGHAN, B.; KRESKEN, J. G.; PATTESON, M.; ABLAD, B.; BUSSADORI, C. M.; GLAUS, T.; KOVACEVIC, A.; RAPP, M.; SANTILLI, R. A.; TIDHOLM, A.; ERIKSSON, A.; BELANGER, M. C.; DEINERT, M.; LITTLE, C. J.; KVART, C.; FRENCH, A.; RONN-LANDBO, M.; WESS, G.; EGGERTSDOTTIR, A. V.; O'SULLIVAN, M. L.; SCHNEIDER, M.; LOMBARD, C. W.; DUKES-MCEWAN, J.; WILLIS, R.; LOUVET, A.; DIFRUSCIA, R. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 5, p. 1124-1135, 2008.

HÄGGSTRÖM, J.; KVART, C.; HANSSON, K. Heart sounds and murmurs: changes related to severity of chronic valvular disease in the Cavalier King Charles spaniel. **Journal of Veterinary of Internal Medicine**, v. 9, n. 2, p. 75-85, 1995.

HÄGGSTRÖM, J.; KVART, C.; PEDERSEN, H. Acquired valvular disease. In: ETTINGER S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**, 6. ed. Saint Louis: Elsevier Saunders. 2005. p.1022-1039.

HODGES, J.; CHRISTOPHER, M. M. Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 11, p. 1452-1458, 2011.

HOLM, J. L.; ROZANSKI, E. L.; FREEMAN, L. M.; WEBSTER, C. R. L. C-reactive protein concentrations in acute pancreatitis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 14, n. 3, p. 183–186, 2004.

HORADAGODA, N. U.; KNOX, K. M. G.; GIBBS, H. A. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute. and chronic inflammation. **Veterinary Records**, v. 144, n. 116, p. 437–441, 1999.

HORWICH, T. B.; FONAROW, G. C.; HAMILTON, M. A.; MACLELLAN, R.; BORENSTEIN, J. Anemia is associated with worse symptoms, great impairment in functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure. **Journal of American College of Cardiology**, v. 39, n. 11, p. 1780-1786, 2002.

HUANG, Y.; ZHI-DE HU, Z.; LIU, S.; SUN, Y.; QIN, Q.; QIN, B.; ZHANG, W.; ZHANG, J.; ZHONG, R.; AN-DENG, M. Prognostic Value of Red Blood Cell Distribution Width for Patients with Heart Failure: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. **PLoS One**, v. 9, n. 8, p. 1-8, 2014.

HU, Z. D.; CHEN, Y.; ZHANG, L.; SUN, Y.; HUANG, Y. L. Red blood cell distribution width is a potential index to assess the disease activity of systemic lupus erythematosus. **Clinica Chimica Acta**, v. 425, p. 202–205, 2013. a

HU, Z.; SUN, Y.; WANG, Q.; HAN, Z.; HUANG, Y.; LIU, X.; DING, C.; HU, C.; QIN, Q.; DENG, A. Red blood cell distribution width is a potential prognostic index for liver disease. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1403–1408, 2013. b

IVERSEN, P.O.; WOLDBAEK, P. R.; Tønnessen, T.; Christensen, G. Decreased hematopoiesis in bone marrow of mice with congestive heart failure, **American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 282, n. 1, p. 166- 172, 2002.

JAGAJOTHI, N.; BRAVERMAN, A. Elevated red cell distribution width in the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura in patients presenting with anemia and thrombocytopenia. **Southern Medical Journal**, v. 100, n. 3, p. 257-259, 2007.

KITTLESON, M. D.; BROWN, W. A. Regurgitant fraction measured by using the proximal isovelocity surface area method in dogs with chronic myxomatous mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 1, p. 84-88, 2003.

KVART, C.; HÄGGSTRÖM, J. Acquired valvular heart disease. In: ETTINGER S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 6. ed. Philadelphia: WB Saunders; 2005. p.1022-1039.

KVART, C.; HÄGGSTRÖM, J.; PEDERSEN, H. D.; HANSSON, K.; ERIKSSON, A.; JÄRVINEN, A. K.; TIDHOLM, A.; BSENKO, K.; AHLGREN, E.; ILVES, M.; ABLAD, B.; FALK, T.; BJERKFAS, E.; GUNDLER, S.; LORD, P.; WEGELAND, G.; ADOLFSSON, E.; CORFITZEN, J. Efficacy of enalapril for prevention of congestive heart failure in dogs with myxomatous valve disease and asymptomatic mitral regurgitation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 80-88, 2002.

LIN, C. K.; LIN, J. S.; CHEN, S. Y.; JIANG, M. L.; CHIU, C. F. Comparison of hemoglobin and red blood cell distribution width in the differential diagnosis of microcytic anemia. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 116, n. 10, p. 1030–1032, 1992.

LJUNGVALL, I.; AHLSTROM, C.; HOGLUND, K.; HULT, P.; KVART, C.; BORGARELLI, L.; ASK, P.; HÄGGSTRÖM, J. Use of signal analysis of heart sounds and murmurs to assess severity of mitral valve regurgitation attributable to myxomatous mitral valve disease in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 5, p. 604-613, 2009.

LJUNGVALL, I.; RISHNIW, M.; PORCIELLO, F.; FERASIN, L.; OHAD, D. G. Murmur intensity in small-breed dogs with myxomatous mitral valve disease reflects disease severity. **Journal of Small Animal Practice**, v. 55, n. 11, p. 545-50, 2014.

LJUNGVALL, I.; TIDHOLM, K. H. A.; OLSEN, L.H.; BORGARELLI, M.; VENGE, P.; HÄGGSTRÖM, P. Cardiac Troponin I Is Associated with Severity of Myxomatous

Mitral Valve Disease, Age, and C-Reactive Protein in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 1, p. 153–159, 2010.

LORD, P.; HANSSON, K.; KVART, C.; HÄGGSTRÖM, J. Rate of change of heart size before congestive heart failure in dogs with mitral regurgitation. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 4, p. 210-218, 2010.

LOW, I.; GRUTZMACHER, P.; BERGMANN, M.; SCHOEPPPE, W. Echocardiographic findings in patients on maintenance hemodialysis substituted with recombinant human erythropoietin. **Clinical Nephrology**, v. 31, n. 1, p. 26–30, 1989.

MAEDA, K.; TANAKA, Y.; TSUKANO, Y.; FUJITA, K.; TANAKA, C.; TAKEUCHI, K.; IKUNO, Y.; OKU, H.; YOSHIMURA, T.; KOTSUMI, K.; MINAMIKAWA, H.; TANAKA, N.; SAWADA, M.; KOMATSU, H.; INOUE, E.; OSHIRO, T.; SHIOTA, K. Multivariate analysis using a linear discriminant function for predicting the prognosis of congestive heart failure. **Japanese Circulation Journal**, v. 46, n. 2, p. 137-142, 1982.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; ECKERSALL, P.D. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis. **Veterinary Records**, v. 150, n. 8, p. 241–244, 2002.

MERLO, A.; REZENDE, B. C. R.; FRANCHINI, M. L.; SIMÕES, D. M. N.; LUCAS, S. R. R. Serum C-reactive protein concentrations in dogs with multicentric lymphoma undergoing chemotherapy. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 230, n. 4, p. 522-526, 2007.

MISCHKE, R.; WATERSTON, M.; ECKERSALL, P. D. Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. **Veterinary Journal**, v. 174, n. 1, p. 188-192, 2007.

MONTAGNANA, M.; CERVELLIN, G.; MESCHI, T.; LIPPI, G. The role of red blood cell distribution width in cardiovascular and thrombotic disorders. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 50, n. 4, p. 635–641, 2012.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K., SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H. C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Various Diseases. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 70, n. 2, p. 127–131, 2008.

NATHAN, S. D.; REFFETT, T.; BROWN, A. W.; FISCHER, C. P.; SHLOBIN, O. A. The Red Cell Distribution Width as a Prognostic Indicator in IPF. **Chest**, v. 143, n. 6, p. 1692-1708, 2013.

NEIGER, R.; HADLEY, J.; PFEIFFER, D. U. Differentiation of dogs with regenerative and non - regenerative anemia on the basis of their red cell distribution width and mean corpuscular volume. **Veterinary Records**, v. 150, n. 14, p. 431 – 434, 2002.

NELSON, R. D.; COUTO, C. G. Doença valvar endocárdica adquirida. In: NELSON, R.D.; & COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**, São Paulo: Elsevier, 2010. Cap. 6, p.114-126.

OH, J.; KANG, K.; HONG, N.; YOUN, J.; HAN, S.; JEON, E.; CHO, M.; KIM, J.; YOO, B.; G, CHA, S. S.; OH, B.; CHOI, D.; LEE, M.; RYU, K. Hemoconcentration is a good prognostic predictor for clinical outcomes in acute heart failure: Data from the Korean Heart Failure (KorHF) Registry. **International Journal of Cardiology**, v.168, p. 4739–4743, 2013.

OLSEN, L. H.; FREDHOLM, M.; PEDERSEN, H. D. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. **Journal of Veterinary of Internal Medicine**, v. 13, n. 5, p. 448-456, 1999.

OLSEN, L. H.; HÄGGSTRÖM, J.; PETERSEN, H. D. Acquired valvular disease. In: ETTINGER S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**, 7. ed. Saint Louis: Elsevier Saunders. 2010. p.1299-1319.

ONISHI, T.; INOKUMA, H.; OHNO, K.; SOEDA, S.; NOGUCHI, K.; SASAKI, K. C-reactive protein concentrations in normal and diseased dogs—measured by laser nephelometric immunoassay. **Journal of Japan Veterinary Medical Association**, v. 53, n. 9, p. 595–601, 2000.

OZSU, S.; ABUL, Y.; GUNAYDIN, S.; OREM, A.; OZLU, T. Prognostic Value of RedCell Distribution Width in Patients With Pulmonary Embolism. **Clinical Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 20, n. 4, p. 365-370, 2012.

PALAZZUOLI, A.; QUATRINI, I.; CALABRÒ, A.; ANTONELLI, G.; CAPUTO, M.; CAMPAGNA, M.S.; FRANCI, B.; NUTI, R. Anemia correction by erythropoietin reduces BNP levels, hospitalization rate, and NYHA class in patients with cardio-renal anemia syndrome. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 11, n. 1, p. 43-48, 2011.

PATEL, K. V.; FERRUCCI, L.; ERSHLER, W. B.; LONGO, D. L.; GURALNIK, J. M. Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. **Archives of Internal Medicine**, v. 169, n. 5, p. 515-523, 2009.

PATEL, H. H.; PATEL, H. R.; HIGGINS, J.M. Modulation of red blood cell population dynamics is a fundamental homeostatic response to disease. **American Journal of Hematology**, v. 90, n. 5, p. 422–428, 2015.

PEDERSEN, H. D.; HÄGGSTRÖM, J. Mitral valve prolapse in the dog: a model of mitral valve prolapse in man. **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 234-243, 2000.

PEPYS, M. B.; HIRSCHFIELD, G. M. C-reactive protein: a critical update. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 111, n. 2, p. 1805–1812, 2003.

PYE, M., RAE, A. P., COBBE, S. M.. Study of serum C-reactive protein concentration in cardiac failure. **British Heart Journal**, v. 63, n. 4, p. 228–230. 1990.

RASTOGI, S.; IMAI, M.; SHAROV, V. G.; MISHRA, S.; SABBAH, H. N. Darbepoetin- α prevents progressive left ventricular dysfunction and remodeling in nonanemic dogs with heart failure. **American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology**, v. 295, n. 6, p. 2475-2482, 2008.

RIDKER, P. M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. **Circulation**, v. 107, p. 363–369, 2003.

RUSH, J. E.; LEE, N. D.; FREEMAN, L. M.; BREWER, B. C-Reactive Protein Concentration in Dogs with Chronic Valvular Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 3, p. 635–639, 2006.

SERRES, F.; CHETBOUL, V.; TISSIER, R.; SAMPEDRANO, C. C.; GOUNI, V.; NICOLLE, A.P.; POUCHELON, J.L. Chordae tendineae rupture in dogs with degenerative mitral valve disease: prevalence, survival, and prognostic factors (114 cases, 2001e2006). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 258-264, 2007.

SHEHATA, H. A.; ALI, M. M.; EVANS-JONES, J.C.; UPTON, G.J.; MANYONDA, I.T. Red cell distribution width (RDW) changes in pregnancy. **International Journal of Gynecology & Obstetrics**, v. 62, n. 1, p. 43-46, 1998.

SILVERBERG, D. S., WEXLER, D., BLUM, M., KEREN, G., SHEPS, D., LEIBOVITCH, E., BROSH, D., LANIADO, S., SCHWARTZ, D., YACHNIN, T., SHAPIRA, I., GAVISH, D., BARUCH, R., KOIFMAN, B., KAPLAN, C., STEINBRUCH, S., IAINA, A. The use of subcutaneous erythropoietin and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations. **Journal of American College of Cardiology**, v. 35, n. 7, p. 1737–1744, 2000.

SISSON D.; KVART C.; DARKE, P. Acquired valvular heart disease in dogs and cats. In: Fox PR, Sisson D, Moise N. **Textbook of canine and feline cardiology**, 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999. p. 536–65.

SOARES, E. C.; LARSSON, M. H. M. A.; PINTO, A. C. B. C. F. Aspectos radiográficos da doença valvar crônica. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 119-124, 2004.

SOLTER, P. F.; HOFFMANN, W. E.; HUNGERFORD, L.L. Haptoglobin and ceruloplasmin as determinants of inflammation in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 10, p. 1738–1742, 1991.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap.2, p.60-65.

SWENSON, L.; HÄGGSTRÖM, J.; KVART, C.; JUNEJA, R.K. Relationship between parental cardiac status in Cavalier King Charles Spaniels and prevalence and severity of chronic valvular disease in offspring. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 208, n. 12, p. 2009-2012, 1996.

TANG, Y. D.; KATZ, S. D. Anemia in chronic heart failure: prevalence, etiology, clinical correlates, and treatment options. **Circulation**, v. 113, p. 2454-2461, 2006.

TECLES, F.; SPIRANELLI, E.; BONFANTI, U.; CERÓN, J. J.; PALTRINIERI, S. Preliminary studies of serum acute-phase protein concentrations in hematologic and neoplastic diseases of the dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 6, p. 865–870, 2005.

TERZO, E.; DI MARCELLO, M.; MCALLISTER, H.; GLAZIER, B.; LO COCO, D.; LOCATELLI, C.; PALERMO, V.; BRAMBILLA, P.G. Echocardiographic assessment of 537 dogs with mitral valve prolapse and leaflet involvement. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. v. 50, n. 4, p. 416-422, 2009.

THRUSFIELD, M. V.; AIKEN, C. G. C.; DARKE, P. G. G. Observations on breed and sex in relation to canine heart valve incompetence. **Journal of Small Animal Practice**, v. 26, n. 12, p. 709-717, 1985.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual de cardiologia para cães e gatos**. 3. ed. São Paulo: Editora Roca. 2002. 489 p.

TONELLI, M.; SACKS, F.; ARNOLD, M.; MOYE, L. Relation between red blood cell distribution width and cardiovascular event rate in people with coronary disease. **Circulation**, v. 117, n. 2, p.163-168, 2008.

TONG E. M.; NISSENSON, A. R. Erythropoietin and Anemia. **Seminars in Nephrology**, v. 21, n. 2, p. 190-203, 2001.

TSELIU, E.; TERROVITIS, J. V.; KALDARA, E. E.; NTALIANIS, A. S.; REPASOS, E.; KATSAROS, L.; MARGARI, Z. J.; MATSOUKA, C.; TOUMANIDIS, S.; NANAS, S. N.; NANAS, S. N. Red blood cell distribution width Is a significant prognostic marker in advanced heart failure, independent of hemoglobin levels. **Hellenic Journal of Cardiology**, v. 55, n. 6, p. 457-461, 2014.

VADUGANATHAN, M.; GREENE, S. J.; FONAROW, G. C.; VOORS, A. A.; BUTLER, J.; GHEORGHIAD, M. Hemoconcentration-guided Diuresis in Heart Failure. **The American Journal of Medicine**, v. 127, p. 1154-1159, 2014.

VAN DER MEER, P.; VOORS, A. A.; LIPSIC, E.; VAN GLIST, W. H.; VAN VELDHUISEN, D. J. Erythropoietin in cardiovascular diseases. **European Heart Journal**, v. 25, n. 4, p. 285–291, 2004.

VENCO, L.; BERTAZZOLO, W.; GIORDANO, G.; PALTRINIERI, S. Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker innaturally heartworm-infected dogs: A field study. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n.1-2, p. 48–54, 2014.

VOLANAKIS, J. E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. **Molecular Immunology**. v.38, n.2-3, p.189–197, 2001.

VOLPE, M.; TRITTO, C.; TESTA, U.; RAO, M. A. E.; MARTUCCI, MIRANTE, A.; ENEA, I.; RUSSO, R.; RUBATTU, S.; CONDORELLI, G.; CANGIANIELLO, S.; BRUNO TRIMARCO, B.; PESCHLE, C.; CONDORELLI, M. Blood levels of erythropoietin in congestive heart failure and correlation with clinical, hemodynamic, and hormonal profiles. **American Journal of Cardiology**, v. 74, n. 5, p. 468-473, 1994.

WANG, P.; WANG, Y.; LI, H.; WU, Y.; CHEN, H. Relationship between the red blood cell distribution width and the risk of acute myocardial infarction. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**. v. 22, n. 1, p. 21-26. 2015.

WHITNEY, J. C. Cardiovascular pathology. **Journal of Small Animal Practice**, v. 8, n. 8, p. 459-465, 1967.

YESIL, A.; SENATES, E.; BAYOGLU, I. V.; ERDEM, E. D.; DEMIRTUNC, R. Red cell distribution width: a novel marker of activity in inflammatory bowel disease. **Gut and Liver**. v. 5, n. 4, p. 460–467, 2011.

APÊNDICE

Apêndice A- Dados demográficos dos 141 cães incluídos no estudo

Animal	Estágio	Idade (anos)	Raça	Sexo	Peso (kg)	FC (bpm)	FR (mrm)	PAS	Sopro	Intensidade
1	A	7	Poodle	F	5	150	30	180	Não	-
2	A	6	Yorkshire	F	5,2	140	Ofeg.	127	Não	-
3	A	5	SRD	M	14,2	160	80	107	Não	-
4	A	9	Poodle	F	4,3	160	29	143	Não	-
5	A	7	Yorkshire	F	4,9	160	24	126	Não	-
6	A	5	Poodle	F	6,3	140	24	136	Não	-
7	A	5	Poodle	M	3,9	140	30	158	Não	-
8	A	5	SRD	M	6,1	140	24	161	Não	-
9	A	5	SRD	F	3,9	160	20	149	Não	-
10	A	5	SRD	M	3,9	126	12	186	Não	-
11	A	5	Shitzu	F	8,9	132	15	138	Não	-
12	A	7	SRD	F	19,8	100	Ofeg.	193	Não	-
13	A	8	SRD	F	12,5	104	24	137	Não	-
14	A	7	SRD	F	12,9	128	Ofeg.	151	Não	-
15	A	6	SRD	F	14,2	70	28	128	Não	-
16	A	7	SRD	F	15,9	130	25	157	Não	-
17	A	7	SRD	M	11,2	120	20	130	Não	-
18	A	7	SRD	F	13	130	50	120	Não	-
19	A	8	SRD	M	13,7	90	25	122	Não	-
20	A	5	SRD	F	17	100	30	126	Não	-
21	A	8	SRD	F	12,3	160	30	168	Não	-
22	A	7	SRD	F	10,9	130	20	136	Não	-
23	A	7	Poodle	M	10,6	110	Ofeg.	157	Não	-
24	A	5	Cairn terrier	M	8,2	125	30	103	Não	-
25	A	5	Cairn terrier	M	10,5	100	25	126	Não	-
26	A	12	Dachshund	M	10,7	100	40	156	Não	-
27	A	6	Whippet	F	7,6	134	30	127	Não	-
28	A	6	SRD	F	6	96	48	145	Não	-
29	A	11	Poodle	F	9,1	180	Ofeg.	150	Não	-
30	A	8	Dachshund	F	8,3	140	20	115	Não	-

Legenda: FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, Ofeg.: ofegante, PAS: Pressão arterial sistólica.

(continua)

Animal	Estágio	Idade (anos)	Raça	Sexo	Peso (kg)	FC (bpm)	FR (mrm)	PAS	Sopro	Intensidade (I/VI)
31	A	6	Yorkshire	F	2,8	120	20	113	Não	-
32	A	8	Lhasa apso	F	4,8	112	40	155	Não	-
33	A	9	Maltês	M	5	144	70	135	Não	-
34	A	6	Beagle	M	14,6	100	20	162	Não	-
35	A	10	SRD	F	18,1	100	52	135	Não	-
36	A	6	Yorkshire	M	2,5	120	Ofeg.	129	Não	-
37	A	11	Cocker spaniel	M	15	140	Ofeg.	167	Não	-
38	A	6	SRD	F	5	186	Ofeg.	107	Não	-
39	A	8	Lhasa apso	F	7,3	140	Ofeg.	164	Não	-
40	A	6	Yorkshire	M	3,5	136	16	114	Não	-
41	A	8	SRD	M	15	100	28	163	Não	-
42	A	6	Schnauzer	F	4,5	108	32	128	Não	-
43	A	8	Srd	F	9,5	150	Ofeg.	145	Não	-
44	A	7	Bulldogue francês	M	16,1	100	30	159	Não	-
45	A	7	SRD	F	13,6	152	Ofeg.	118	Não	-
46	A	6	SRD	F	17,8	136	14	168	Não	-
47	A	12	SRD	M	11,8	132	30	135	Não	-
48	A	11	SRD	F	9,5	136	Ofeg.	225	Não	-
49	A	6	Pinscher	M	3,4	140	100	157	Não	-
50	A	6	SRD	F	15,9	88	Ofeg.	110	Não	-
51	A	7	SRD	M	8,2	120	28	188	Não	-
52	A	6	Dachshund	M	8,8	160	24	159	Não	-
53	A	6	SRD	M	16	180	36	160	Não	-
54	B1	7	Beagle	M	6,8	140	32	125	Sim	III/VI
55	B1	9	Dachshund	M	4,9	140	26	120	Sim	IV/VI
56	B1	10	Lhasa apso	F	13,8	129	20	150	Sim	II/VI
57	B1	9	Lhasa apso	M	4,9	140	Ofeg.	140	Sim	III/VI
58	B1	6	Maltês	M	7	110	25	165	Sim	IV/VI
59	B1	13	Maltês	F	4,6	110	40	165	Sim	III/VI
60	B1	6	Pinscher	M	4,4	120	30	140	Sim	III/VI

Legenda: FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, Ofeg.: ofegante, PAS: Pressão arterial sistólica.

(continua)

Animal	Estágio	Idade (anos)	Raça	Sexo	Peso (kg)	FC (bpm)	FR (mrm)	PAS	Sopro	Intensidade (I/VI)
61	B1	12	Pinscher	F	5,8	135	Ofeg.	145	Sim	II/VI
62	B1	8	Poodle	M	10,2	95	35	130	Sim	II/VI
63	B1	9	Poodle	M	10,8	100	25	160	Sim	III/VI
64	B1	11	Poodle	F	4,2	96	25	115	Não	-
65	B1	9	Poodle	M	11,6	160	46	170	Sim	IV/VI
66	B1	12	Poodle	F	9,3	120	Ofeg.	200	Sim	I/VI
67	B1	17	Poodle	M	8,4	100	30	130	Sim	III/VI
68	B1	15	Poodle	F	7,2	140	40	120	Sim	III/VI
69	B1	10	Poodle	M	11,4	105	45	155	Sim	II/VI
70	B1	6	Schnauzer	M	9,5	144	40	135	Não	-
71	B1	9	Shitzu	M	3,5	112	32	150	Não	-
72	B1	10	Shitzu	F	3	160	Ofeg.	145	Sim	III/VI
73	B1	10	Shitzu	F	14,7	92	12	120	Sim	II/VI
74	B1	9	SRD	F	15	136	Ofeg.	140	Sim	IV/VI
75	B1	14	SRD	F	2,2	123	12	145	Não	-
76	B1	11	SRD	F	9,2	140	24	150	Sim	I/VI
77	B1	8	SRD	F	6,4	100	40	175	Não	-
78	B1	10	SRD	F	4,1	165	36	150	Sim	II/VI
79	B1	10	Whippet	M	7,3	148	120	145	Sim	II/VI
80	B1	12	Yorkshire	F	3,4	140	40	180	Não	-
81	B1	10	Yorkshire	M	13,5	112	48	150	Sim	III/VI
82	B1	12	Yorkshire	F	6,5	140	36	140	Não	-
83	B1	10	SRD	M	12,3	84	28	120	Não	-
84	B2	10	Fox paulistinha	M	9,8	144	32	125	Sim	IV/VI
85	B2	8	Spitz alemão	M	8,2	160	30	125	Sim	II/VI
86	B2	14	Maltês	M	3,5	140	32		Sim	IV/VI
87	B2	8	Pinscher	M	6,6	160	Ofeg.	138	Sim	II/VI
88	B2	14	Poodle	F	5	100	24	151	Sim	III/VI
89	B2	13	Poodle	M	4,5	140	28	137	Sim	IV/VI
90	B2	11	Poodle	M	4,1	136	32	122	Sim	III/VI

Legenda: FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, Ofeg.: ofegante, PAS: Pressão arterial sistólica.

(continua)

Animal	Estágio	Idade (anos)	Raça	Sexo	Peso (kg)	FC (bpm)	FR (mrm)	PAS	Sopro	Intensidade (I/VI)
91	B2	8	Poodle	M	5,7	156	Ofeg.	156	Sim	IV/VI
92	B2	14	Poodle	F	4,9	160	Ofeg.	146	Sim	III/VI
93	B2	13	Poodle	F	5,8	100	26	121	Sim	IV/VI
94	B2	11	Poodle	M	10,6	136	Ofeg.	120	Sim	IV/VI
95	B2	8	Poodle	F	8,8	132	28	148	Sim	IV/VI
96	B2	13	Poodle	M	4	100	Ofeg.	101	Sim	III/VI
97	B2	13	Poodle	F	3,2	120	40	106	Sim	IV/VI
98	B2	10	Poodle	F	6,3	132	Ofeg.	134	Sim	IV/VI
99	B2	8	Schnauzer	M	3,6	100	36	122	Sim	IV/VI
100	B2	5	SRD	M	8,8	132	56	124	Sim	IV/VI
101	B2	6	SRD	F	4,8	100	24	147	Sim	IV/VI
102	B2	12	SRD	F	7,6	160	Ofeg.	178	Sim	III/VI
103	B2	6	SRD	F	3,4	140	36	126	Sim	IV/VI
104	B2	11	SRD	M	3,4	100	40	214	Sim	III/VI
105	B2	12	Dachshund	M	9,7	120	Ofeg.	140	Sim	III/VI
106	C	11	SRD	M	6,2	168	32	95	Sim	IV/VI
107	C	10	Poodle	M	2,9	120	38	91	Sim	IV/VI
108	C	13	Poodle	M	6,5	136	40	99	Sim	V/VI
109	C	11	Pinscher	M	3,7	140	48	119	Sim	V/VI
110	C	13	SRD	M	6,9	130	40	107	Sim	V/VI
111	C	12	SRD	F	13,3	120	60	155	Sim	IV/VI
112	C	18	Pequines	M	4	140	32	140	Sim	V/VI
113	C	10	Poodle	F	3,8	160	40	115	Sim	V/VI
114	C	6	Poodle	M	4,5	120	24	150	Sim	IV/VI
115	C	9	SRD	M	9	140	Ofeg.	105	Sim	IV/VI
116	C	12	SRD	F	9,3	140	20	110	Sim	IV/VI
117	C	9	Maltês	M	2,8	160	50	130	Sim	IV/VI
118	C	10	Shitzu	F	4,6	150	30	78	Sim	IV/VI
119	C	13	Dachshund	M	7,3	150	45	130	Sim	V/VI
120	C	14	Poodle	F	2,8	165	60	113	Sim	V/VI

Legenda: FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, Ofeg.: ofegante, PAS: Pressão arterial sistólica.

(continua)

Animal	Estágio	Idade (anos)	Raça	Sexo	Peso (kg)	FC (bpm)	FR (mrm)	PAS	Sopro	Intensidade (I/VI)
121	C	10	Poodle	M	6,3	160	Ofeg.	113	Sim	V/VI
122	C	11	Lhasa apso	M	7,6	180	100	121	Sim	III/VI
123	C	13	Whippet	M	11,1	140	36	124	Sim	V/VI
124	C	14	SRD	F	6,2	132	40	121	Sim	V/VI
125	C	11	Shitzu	M	4,2	152	180	160	Sim	V/VI
126	C	10	Poodle	M	5	140	24	133	Sim	IV/VI
127	C	12	Poodle	M	3,6	140	120	120	Sim	IV/VI
128	C	12	SRD	F	14,1	160	Ofeg.	115	Sim	IV/VI
129	C	12	Poodle	M	7,7	156	60	115	Sim	III/VI
130	C	10	Poodle	M	9,6	160	70	115	Sim	IV/VI
131	D	10	Fox paulistinha	M	3,5	150	36	108	Sim	VI/VI
132	D	12	Maltês	M	3,3	150	45	148	Sim	V/VI
133	D	13	Maltês	M	4	140	40	160	Sim	V/VI
134	D	12	Poodle	M	11,2	148	30	132	Sim	IV/VI
135	D	11	Poodle	M	3,9	200	60	108	Sim	IV/VI
136	D	9	Shitzu	M	5,4	128	36	96	Sim	V/VI
137	D	13	SRD	F	10,3	200	52	95	Sim	V/VI
138	D	12	SRD	M	4,9	132	32	116	Sim	V/VI
139	D	14	Dachshund	M	11,3	104	36	160	Sim	V/VI
140	D	14	Dachshund	M	8,3	161	40	125	Sim	V/VI
141	D	14	Dachshund	M	6,8	166	24	114	Sim	V/VI

Legenda: FC: Frequência cardíaca, FR: Frequência respiratória, Ofeg.: ofegante, PAS: Pressão arterial sistólica.

Apêndice B- Valores dos dados hematológicos dos 141 cães incluídos no estudo

Animal	Estágio	He (x106/µL)	Hg (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leucócitos	Neutrófilos	RDW (%)	PCR (ng/mL)
1	A	7,9	19	56	71	24	34	6.900	4.416	14,4	659,4
2	A	7,6	19,1	56	73	25	34	12.000	9.120	13,2	734,8
3	A	7,1	17,7	52	72	25	34	11.800	8.496	13	3.247
4	A	7,5	17	51	68	23	33	7.100	5.680	12,9	946,9
5	A	8,9	21	60	67	24	35	7.500	4.650	13,1	3.894,5
6	A	7,2	17,2	51	71	24	34	8.300	6.474	12,4	4.520,5
7	A	5,86	15,1	42,4	72,4	25,7	35,5	11.780	8.680	14,3	26.735,5
8	A	7,8	17,3	52	66	22	33	13.200	10.770	13,5	4.543,5
9	A	6,7	10,5	34	51	16	31	18.400	16.008	18	2.069,5
10	A	8	17,9	54	67	22	33	14.750	12.320	13,6	2.609
11	A	7,1	16,2	48	67	23	34	8.110	5.870	12,9	6.280
12	A	8,34	20	56,9	68	23,9	35,1	9.500	5.605	13,1	1.382,7
13	A	7,86	18,4	53,7	68	23,4	34,3	8.700	4.437	14,5	5.594
14	A	7,82	18,4	54,6	70	23,5	33,6	11.500	7.705	13,2	8.371
15	A	8,73	19,7	57,1	65	22,6	34,5	6.800	3.944	12,9	5.542,5
16	A	8,52	17,9	53,2	62	21	33,6	8.200	4.838	12,6	3.696,5
17	A	8,61	19,7	58,9	68	22,9	33,5	9.900	5.346	12,8	5.214,5
18	A	8,1	16	55,1	68	19,7	29	9.100	5.096	12,7	1.926
19	A	9,36	21,8	64,4	69	23,3	33,9	8.000	4.480	13,8	1.782,9
20	A	7,97	18,9	54,8	69	23,7	34,5	9.500	6.365	14,7	4.553
21	A	8,28	19,5	57,6	70	23,6	34	9.700	6.305	15,6	9.165
22	A	7,16	17,4	51,4	72	24,2	33,4	9.600	5.760	13,3	4.766
23	A	7,9	18,4	52	66	23	35	8.800	5.380	13,9	3.458,4
24	A	7,2	16,5	46	64	23	35	7.270	4.350	11,7	1.532,5
25	A	6,6	15,6	44	67	24	36	8.490	5.820	11,5	1.685,5
26	A	7,2	17,2	58	21	34	35	7.750	5.730	11,7	1.479,5
27	A	8,3	19,1	56	67	23	34	10.780	7.640	11,2	1.748,5
28	A	6,7	15,6	45	67	23	34	8.440	4.300	11,9	522,6
29	A	8,8	19,4	57	64	22	34	10.300	7.640	12,9	1.599,4
30	A	9,1	20,9	61	67	23	34	10.070	7.720	11,9	1.469,7

Legenda: He: hemácias, Ht; hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: amplitude de distribuição de hemácias, RCP: Proteína -C reativa

(continua)

Animal	Estágio	He (x10 ⁶ /μL)	Hg (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leucócitos	Neutrófilos	RDW(%)	PCR (ng/mL)
31	A	7,6	18,3	50	66	24	36	11.590	7.290	11,2	1.779,3
32	A	6,7	15,9	47	70	24	34	10.280	6.880	13,1	962,4
33	A	8,3	19,1	56	68	23	34	7.530	7.530	11,8	176,96
34	A	7,5	17,1	48	64	23	35	5.210	3.350	11,2	1.501,5
35	A	7,4	17,6	50	67	24	34	8.200	5.832	11,1	1.504,3
36	A	7,7	18,1	51	67	24	35	5.210	3.350	13	1.016,3
37	A	7,7	17,3	48	63	22	36	9.290	6.650	12	1.646,5
38	A	8,2	18,1	50	61	22	36	8.300	4.431	11,7	1.700,5
39	A	7,5	17,4	48	64	23	36	8.240	5.870	12	1.521,5
40	A	6,9	15,6	48	69	23	33	6.500	4.745	13,8	3.940,5
41	A	7,8	18,1	53	68	23	34	5.400	3.618	13,1	1.537
42	A	6,7	16,3	47	71	24	35	5.730	3.330	12,5	2.838,5
43	A	8,7	20,7	55	63	24	37	8.020	5.930	12,6	1.552,6
44	A	6,7	16,5	45	68	25	36	8.350	5.630	11,7	1.468,518,9
45	A	7,7	18,9	54	70	24	35	11.880	8.920	12,7	2.733,5
46	A	7,3	17,7	48	66	24	37	5.330	3.720	12,2	641,2
47	A	8,3	19,6	51	62	23	38	9.550	6.750	13,6	2.305,2
48	A	9	20,3	59	65	22	35	9.100	7.310	11,8	337,7
49	A	7,6	17,4	53	69	23	33	12.460	10.470	10,8	1.014,6
50	A	6,8	16,2	48	71	24	34	9.020	5.360	13	651,9
51	A	8,2	19,1,1	56	68	23	34	8.650	6.000	12,9	212
52	A	9,9	21,8	67	67	22	33	9.690	7.300	15,1	641
53	A	6,2	14,5	4370	43	70	23	6.640	4.720	13	621,5
54	A	7,3	15,3	44	61	21	34	10.400	7.488	13,5	255,8
55	A	7	15,5	46	65	22	34	8.800	4.664	18	825,6
56	A	7,7	18,3	53	69	29	34	7.000	5.320	14,6	77,84
57	A	7,9	19	55	69	23	35	12.400	10.044	13,1	3.039
58	A	7,4	16,9	50	67	23	34	9.800	6.860	18	1475,1
59	A	6,8	16,2	46	68	24	35	9.300	6.417	12,7	8.887
60	A	9,18	22,1	64,5	70,2	24,1	34,4	7.190	4.930	18,7	1.198,6

Legenda: He: hemácias, Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: amplitude de distribuição de hemácias, RCP: Proteína -C reativa

[Digite texto]

(continua)

Animal	Estágio	He (x106/µL)	Hg (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leucócitos	Neutrófilos	RDW (%)	PCR (ng/mL)
61	B1	7	17	50	71	24	34	14.990	10.800	11,9	7505,5
62	B1	7,8	18,1	51	65	23	36	8.180	5.950	13,5	381
63	B1	6,9	16,5	47	69	24	35	12.680	10.150	11	1.069,4
64	B1	6,4	15,4	44	68	24	35	9.200	7.084	13,4	185,5
65	B1	8	19,4	55	68	24	35	7.730	6.080	12,3	613
66	B1	7,7	17,4	50	64	22	9,7	6.970	6.970	11,5	1.165,1
67	B1	8,9	20,5	58	66	23	35	9.190	6.300	12,3	725,3
68	B1	6,1	14,6	41	67	24	35	7.950	5.430	12,1	1.796,68
69	B1	8,27	17,9	56	67,4	21,6	32,1	13.300	10.241	13,7	780,98
70	B1	8,4	18,1	54	64	22	34	10.150	7.230	12,6	1.072,2
71	B1	8,2	18,7	55	66	23	34	8.060	4.960	12,6	1.399,3
72	B1	8	18	53	66	22	34	6.330	4.150	11,8	4.640,1
73	B1	6,2	14,7	43	69	24	34	8.200	5.822	12,3	6.887,3
74	B1	7,6	16,8	45	60	22	37	10.250	5.790	11,8	4.052,4
75	B1	7,9	18	51	64	23	35	6.420	4.810	13,1	741,8
76	B1	7,5	17,5	49	65	23	36	9.810	7.960	11,5	1.876
77	B1	6,2	15,2	44	71	24	34	9.500	5.605	12	1.111,5
78	B1	7,5	17,3	45	60	23	38	9.910	8.070	14,3	2.457
79	B1	6,1	14,8	44	72	24	34	6.820	4.580	12,5	8.595,9
80	B1	8	19,4	54	68	24	36	9.210	7.040	11,5	620,9
81	B1	7,3	17,6	48	65	24	37	6.280	4.180	11,8	222,7
82	B1	7,2	17,1	48	67	24	35	10.750	7.750	10,6	1.848,4
83	B1	6,1	16	45	74	26	35	9.270	6.220	11,9	574,4
84	B2	6,3	13	39	63	21	33	13.500	1.145	17,2	5.201
85	B2	6,2	13	39	63	21	33	13.500	11.475	17,2	5.201
86	B2	17,7	17,7	53	71	23	33	11.400	8.664	13,7	5.530,5
87	B2	6,2	19,5	55	67	24	35	9.500	5.890	19,2	181,34
88	B2	7,5	17,1	53	70	23	32	6.100	2.694	17,2	9.242,5
89	B2	7,5	18,5	54,6	72,4	24,5	33,9	5.460	3.980	17	374,3
90	B2	6,6	14,5	44	68	22	33	9.040	4.280	13,3	936,7

Legenda: He: hemácias, Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: amplitude de distribuição de hemácias, RCP: Proteína -C reativa

(continua)

Animal	Estágio	He (x10 ⁶ /μL)	Hg (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leucócitos	Neutrófilos	RDW (%)	PCR (ng/mL)
91	B2	6,3	14,4	40	64	23	36	11.200	8.270	12,4	4.945,5
92	B2	6,6	15,1	43	65	23	35	6.410	4.510	12,7	1.025,5
93	B2	6,6	15	43	66	23	35	9.750	6.750	11,6	639,3
94	B2	7,2	16,7	46	64	23	36	10.870	8.210	11,4	2.001,2
95	B2	6,8	25,6	47	69	23	33	7.000	4.000	12,4	1.838,5
96	B2	7,7	17,3	47	62	23	36	7.820	5.370	12,5	436,6
97	B2	7	16,6	51	73	24	33	4.200	3.024	11,8	1.475,6
98	B2	6,6	15,6	46	70	24	34	7.000	5.000	11,3	492,6
99	B2	8,1	19,4	57	71	24	34	9.040	5.990	11,5	988,2
100	B2	6,2	13,7	41	65	22	34	11.430	7.740	12,1	492,5
101	B2	6,3	14,9	45	70	24	33	4.700	3.100	12,1	4.173,2
102	B2	8,6	18,6	54	63	22	34	6.990	4.490	12	883,2
103	B2	6,6	15,5	45	68	23	34	6.200	4.060	12,2	866,9
104	B2	8,2	19,4	57	70	24	34	8.790	6.390	12,4	630,5
105	B2	6,9	16,3	48	70	24	34	11.600	8.150	11,4	427,1
106	B2	7,3	14,6	46	62	20	32	11.700	7.722	14,6	1.296
107	C	6,5	16,1	48	74	25	34	3.700	2.146	15,3	3.990
108	C	4,9	12,8	35	72	26	35	22.800	19.380	13,5	17.185,5
109	C	5,5	12,4	36	66	22	34	13.200	10.824	12,8	25.776,5
110	C	8,8	20,6	60	74	24	33	7.000	4.830	13,4	946,9
111	C	6	14,5	42	70	24	35	7.540	5.650	13,6	977,2
112	C	7,2	16	47	66	22	34	14.090	11.580	16	866,3
113	C	5,8	12,1	38	65	21	32	5.440	3.400	13,7	4.901
114	C	7,5	17,6	53	70	23	33	9.040	4.280	13,1	2.251
115	C	7,8	17,2	50	64	22	34	7.600	5.220	15	9.810
116	C	8,1	18,3	56	69	23	33	8.440	5.750	13,2	1.329
117	C	6,5	14,3	47	72	22	31	11.020	11.020	13,7	12.206
118	C	7	16,6	47	67	24	35	14.880	10.720	12,9	1.746
119	C	5,7	13,3	39	68	23	34	6.840	4.090	13	4.566
120	C	5,9	13,1	39	66	22	33	25.240	20.040	12	24.317,5

Legenda: He: hemácias, Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: amplitude de distribuição de hemácias, RCP: Proteína -C reativa

[Digite texto]

(conclusão)

Animal	Estágio	He (x106/ μ L)	Hg (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	Leucócitos	Neutrófilos	RDW (%)	PCR (ng/mL)
121	C	5,5	11,8	35	64	21	34	23.900	19.837	14,7	4.220,5
122	C	7,2	16,8	50	69	23	34	10.490	7.580	12,1	459
123	C	8,3	19,1	56	67	23	34	10.780	7.640	14	242,8
124	C	7,3	17,6	50	68	24	35	8.540	5.800	11,7	1.377,8
125	C	7,6	18,9	52	68	25	37	8.300	6.391	12,1	2.146,5
126	C	8,5	19,2	55	65	23	34	10.870	8.540	11,5	4.344,6
127	C	7,8	18,4	53	67	23	35	12.940	9.550	12,4	795,8
128	C	8,8	19,7	57	65	22	34	7.870	5.530	12,6	359,2
129	C	7,5	17,2	53	71	23	32	11.580	8.270	12,3	5.684,7
130	C	7,4	16,9	52	70	23	33	13.720	9.550	14,4	3.793,4
131	D	6,7	15	44	66	22	34	13.050	9.490	13	6.798,5
132	D	7,7	16,1	45	58	21	36	7.840	5.590	14	1.844
133	D	6,8	14,5	42	61	21	35	10.700	9.630	12,8	5.983,5
134	D	7,4	16,3	46	63	22	35	9.890	6.840	14,6	2.084
135	D	7,2	15,6	46	64	22	34	7.200	5.040	14,2	1.592,3
136	D	7,2	15,9	46	64	22	34	9.960	6.230	11,3	470,3
137	D	6,6	14,6	42	64	22	34	11.900	9.520	11,7	3.628,3
138	D	6,2	14,8	40	65	24	37	13.130	9.100	13,4	6.254,5
139	D	7,1	16,3	48	68	23	34	6.000	5.000	11,3	4.989,5
140	D	6,2	12,9	38	60	21	34	7.000	5.000	12,6	6.275
141	D	6,5	14	40	62	21	35	9.240	5.740	12	

Legenda: He: hemácias, Ht: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; RDW: amplitude de distribuição de hemácias, RCP: Proteína -C reativa.