

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DO FIBRINOGENIO EM EQUINOS PORTADORES DE ABDÔMEN AGUDO: COMPARAÇÃO DE DUAS DIFERENTES TÉCNICAS

LIA GONÇALVES REZENDE, AUREO EVANGELISTA SANTANA, PAULA ALESSANDRA DI FILIPPO

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias–UNESP–Jaboticabal

As proteínas desempenham papel integral em inúmeros processos fisiológicos. Ademais, há muito se tem conhecimento de um grupo seletivo de proteínas plasmáticas que sofrem mudanças na sua constituição em estágio precoce do processo inflamatório, as quais são coletivamente denominadas proteínas de fase aguda (*acute phase protein – APP*). Estas APP alteram sua concentração em decorrência de mudanças orgânicas, como as infecções, inflamações, traumas cirúrgicos ou estresse. A concentração circulante das APP relaciona-se à severidade da afecção e à extensão das lesões teciduais apresentadas pelo animal; portanto, a quantificação destas pode prover informações diagnósticas e prognósticas importantes se mensurada em tempo ideal. As APP são compostas por proteínas negativas e positivas. As negativas incluem a albumina e a transferrina. As APP positivas, por sua vez, consistem de glicoproteínas sintetizadas principalmente pelos hepatócitos sob estímulo desencadeado por citocinas pró-inflamatórias liberadas na corrente sanguínea pelos macrófagos em resposta a vários tipos de estímulos internos ou externos. Dentre as APP positivas encontram-se a haptoglobina, a proteína C-reativa, a ceruloplasmina, a α_1 -antitripsina, a glicoproteína ácida e o fibrinogênio. O fibrinogênio, fator I da cascata da coagulação, fornece substrato para a formação de fibrina e para a reparação tecidual, formando uma matriz para a migração de células inflamatórias. A concentração plasmática do fibrinogênio em equinos hígidos encontra-se entre 200-400 mg/dL. Concentrações plasmáticas de 500 a 600 mg/dL indicam estágio precoce de inflamação, enquanto valores iguais ou superiores a 1.000 mg/dL indicam processo inflamatório avançado. Nos quadros de abdômen agudo é freqüente o desenvolvimento de processos inflamatórios, inclusive processos anormais de coagulação. Sendo assim, a mensuração do fibrinogênio plasmático tornou-se especialmente conveniente na rotina da medicina veterinária equina, auxiliando no diagnóstico e prognóstico do processo inflamatório, especialmente em equinos apresentando a referida síndrome. Diversos procedimentos laboratoriais têm sido utilizados para quantificar a concentração plasmática do fibrinogênio sendo que cada um dos quais possui vantagens e desvantagens, inexistindo um único método inteiramente satisfatório em todas as circunstâncias.

Diante do reconhecimento de anormalidades inflamatórias associadas a distúrbios gastrointestinais em equinos somando-se à necessidade de identificação e padronização de um método acessível e eficaz, pretendeu-se, neste estudo, comparar os resultados da mensuração do fibrinogênio plasmático por dois diferentes métodos, ou sejam, o de Schalm, baseado no princípio da precipitação térmica, amplamente difundido e utilizado por ser de fácil execução, baixo custo, sem exigir equipamento ou mão de obra especializada; e a técnica cronométrica descrita por Clauss, método padrão na medicina humana, preciso, confiável e de rápida execução. Além disso, objetivou-se também

comparar os resultados obtidos em eqüinos saudáveis e em eqüinos com abdômen agudo utilizando-se ambos os métodos.

Foram avaliados 10 eqüinos portadores de abdômen agudo, machos ou fêmeas, com idades, raças e pesos variáveis, atendidos junto ao referido Hospital Veterinário (HV) para tratamento clínico e/ou cirúrgico da referida síndrome. Foram analisadas também, amostras de 20 animais sadios, como grupo controle. A colheita das amostras de sangue foi realizada em 10 momentos: imediatamente após a chegada do animal ao hospital veterinário e seqüencialmente 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 horas e 7º e 10º dia após o término do procedimento clínico e/ou cirúrgico. As amostras controle foram similarmente colhidas e analisadas. Para o procedimento de Schalm, as amostras, colhidas com o anticoagulante EDTA, foram centrifugadas e a proteína plasmática foi dosada em um refratômetro. Em seguida, o plasma foi submetido à temperatura de 56°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) por 3 minutos, recentrifugado e a proteína dosada novamente. A diferença entre as duas mensurações determina a concentração do fibrinogênio no plasma. Já na técnica de Clauss, as amostras foram colhidas com citrato, centrifugadas, diluídas em solução tampão numa razão de 1:10 e adicionadas a uma segunda solução contendo excesso de trombina, a qual desencadeia o processo de polimerização do fibrinogênio. O tempo de formação do coágulo, determinado a 37°C no plasma, foi então convertido em concentração de fibrinogênio por meio de uma tabela fornecida pelo fabricante. Para comparar os valores médios obtidos pelos diferentes métodos dentro de cada grupo (controle ou doentes), foi aplicado o teste T pareado para amostras dependentes. Para confrontar as médias dos diferentes grupos em cada método, foi utilizado o teste t para amostras independentes. Ambos os tratamentos estatísticos foram aplicados no nível mínimo de significância de 5%.

Em ambos os métodos, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores médios apresentados pelos animais doentes e pelos animais hígidos nos momentos T2, T4, T6 e T7. Observa-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os métodos nos momentos T1, T2, T3, T4, T5, T7, T9 e T10 no grupo controle e nos momentos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T9 e T10 no grupo de animais doentes, sendo os valores observados para a técnica cronométrica constantemente inferiores aos obtidos pelo procedimento de Schalm. Essas diferenças podem ser explicadas pelo fato de se tratarem de duas técnicas baseadas em princípios diferentes. Observou-se ainda, neste estudo, que os valores médios do fibrinogênio plasmático apresentado pelos animais hígidos, em ambas as técnicas, situaram-se entre os valores de referência para a referida espécie. Além disso, foi observado um aumento considerável na concentração do fibrinogênio em animais com abdômen agudo quando comparados aos animais hígidos, através de ambas as técnicas. Sendo assim, pode-se concluir que os procedimentos testados foram confiáveis na determinação do fibrinogênio na medida em que detectaram a elevação de sua concentração plasmática nos animais doentes. Este trabalho confirma a idéia de que a mensuração do fibrinogênio é um fator que contribui de forma positiva no auxílio ao diagnóstico de estados inflamatórios, principalmente em eqüinos com abdômen agudo que, muito freqüentemente desenvolvem processos anormais de coagulação. E, diante dos resultados observados, tem-se que ambos os métodos mostraram-se eficazes e confiáveis na determinação do fibrinogênio plasmático, podendo ser indicados na rotina clínico-laboratorial. Porém, o método de Schalm, por ser de mais fácil execução e apresentar menores custos, mostrou-se um procedimento de maior aplicabilidade prática.

Palavras-chave: eqüino, fibrinogênio, abdômen agudo.

- CAMPBELL, M. D.; BELLAMY, J. E.; SEARCY, G. P. Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. **Am. J. Vet. Res.**, v. 42, n. 1, p. 100-104, 1981.
- FAGLIARI, J. J.; MCCLENAHAN, D.; EVANSON, O. A.; WEISS, D. J. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. **Am. J. Vet. Res.**, v. 59, n. 10, p. 1234-1237, 1998.
- FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hígidos e de equinos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 54, n. 6, p. 559-567, 2002.
- HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response, **Biochemical Journal**, v. 265, p. 621-636, 1990.
- JAFARZADEH, S. R.; NOWROUZIAN, I.; KHAKI, Z.; GHAMSARI, S. M.; ADIBHASHEMI, F. The sensitivities and especificities of total plasma protein and plasma fibrinogen for diagnosis of traumatic reticuloperitonitis in cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 65, p. 1-7, 2004.
- JOHNSTONE, I. B.; CRANE, S. Hemostatic abnormalities in equine colic. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n. 2, p. 356-358, 1986.
- LORAND, L. Deciphering the physiological pathway of clotting of fibrinogen in blood plasma. **Biophysical Chemistry**, v. 112, p. 141-145, 2004.
- MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v. 168, p. 28-40, 2004.
- PRASSE, K. W.; TOPPER, M. J.; MOORE, J. N.; WELLES, E. G. Analysis of hemostasis in horses with colic. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 203, n. 5, p. 685-693, 1993.
- SCHALM, O. W. Plasma Protein: Fibrinogen ratios in disease in the dog and horse. Part II. **Calif. Vet.**, v. 24, 1970.
- SCHERAGA, H. A. The trombin-fibrinogen interaction. **Biophysical Chemistry**, v. 112, p. 117-130, 2004.
- TAMZALI, Y.; GUELF, J. F.; BRAUN, J. P. Plasma fibrinogen measurement in the horse: comparison of Millar's technique with a chronometric technique and the QBC-Vet Autoreader. **Res. in Vet. Sci.**, v. 71, p. 213-217, 2001.
- TAN, V.; DOYLE, C.J.; BUDZYNSKI, A. Z. Comparison of the kinetic fibrinogen assay with the von Clauss method and the clot recovery method in plasma of patients with conditions affecting fibrinogen coagulability. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, v. 104, n. 4, p. 455-462, 1995.