



CAMILA SANTOS PEREIRA

**TROPONINA I COMO BIOMARCADOR DE
LESÃO CARDÍACA EM CÃES COM SEPSE**

LAVRAS - MG

2015

CAMILA SANTOS PEREIRA

**TROPONINA I COMO BIOMARCADOR DE LESÃO CARDÍACA EM
CÃES COM SEPSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Ruthnea Aparecida Lázaro Muzzi

Coorientadores

Dr. Antonio Carlos Cunha Lacrete Junior

Dr. Guilherme Oberlender

LAVRAS - MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pereira, Camila Santos.

Troponina I como biomarcador de lesão cardíaca em cães com
sepsis / Camila Santos Pereira. – Lavras : UFLA, 2015.
55 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientadora: Ruthnea Aparecida Lázaro Muzzi.

Bibliografia.

1. Sepsis. 2. Cães. 3. Biomarcadores. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CAMILA SANTOS PEREIRA

**TROPONINA I COMO BIOMARCADOR DE LESÃO CARDÍACA EM
CÃES COM SEPSE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 30 de junho de 2015.

Dr. Moacir Leomil Neto	PUC <i>Campus</i> Poços de Caldas
Dr. Leonardo Augusto Lopes Muzzi	UFLA
Dr. Antonio Carlos Cunha Lacreta Junior	UFLA

Dra. Ruthnea Aparecida Lázaro Muzzi
Orientadora

Dr. Antonio Carlos Cunha Lacreta Junior
Coorientador

LAVRAS - MG

2015

Aos meus pais, por tornarem possível a realização de mais este sonho, por todo amor, suporte e por compreenderem a distância física durante todos esses anos, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Medicina Veterinária (DMV), pela oportunidade concedida para a realização do mestrado, concluindo mais uma etapa da minha formação.

À professora Ruth, minha orientadora, pela confiança depositada durante o mestrado, pela amizade, carinho e cuidados, pelos ensinamentos desde a Residência, os quais fizeram despertar em mim não somente o interesse pela área científica, mas também pela cardiologia veterinária.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela aprovação e recursos destinados ao projeto.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFLA, especialmente Leonardo, Lacreta, Rodrigo, Gabriela e Cacá pela boa convivência e ensinamentos.

Aos membros da banca, professor Moacir, Leonardo e Antonio Carlos Lacreta, por terem aceitado o convite.

Ao Job, pelo apoio nas horas difíceis, pela paciência, carinho, compreensão e amor, por ter me apoiado e ajudado a conquistar meus sonhos e por tornar meus dias mais alegres.

À minha família, meus irmãos, minha cunhada e meu cunhado e minha sobrinha, por todo o apoio. Em especial, aos meus pais Sônia e Mário, que sempre estiveram ao meu lado desde o início desta jornada, sempre presentes nos momentos mais importantes e por terem acreditado em meus sonhos e proporcionado que eles se tornassem realidade.

Às minhas amigas Mari, que se tornou uma irmã para mim desde que iniciamos nossa Residência, dividindo momentos de alegrias e tristezas, uma

pessoa que sempre esteve e sempre estará ao meu lado. A Carol, por toda a amizade, carinho e cuidados. Ao Fer, por toda amizade e ensinamentos durante todo esse tempo e por ser sempre uma pessoa disposta a ajudar a todos.

A Vaninha, não somente pela amizade de todos esses anos, mas também pela parceria e companheirismo durante esse projeto, por estar sempre disposta a me ajudar, pelo carinho e pelas boas risadas que demos juntas durante essa caminhada.

Aos amigos que conquistei durante a Residência, em especial Guigo, Ingrid, Val e Nathy que mesmo com a distância física, sei que criamos laços de amizade que serão para a vida toda.

Ao Luiz, Tati e Claudine pela amizade e ajuda durante esse tempo todo.

Aos Residentes e Mestrandos pelo trabalho em conjunto e pela boa convivência.

Aos alunos de Iniciação Científica que ajudaram na execução deste trabalho, em especial à Marina, Raquel, Paula, Gabi e Jéssica (hoje Residente), que sempre tiveram boa vontade e comprometimento durante todo o projeto.

Aos funcionários do Hospital Veterinário, Dona Meire, Carla, “seu” Maurício e Érica, pela amizade durante todos esses anos, por estarem sempre alegres e de bem com a vida e pela companhia durante os cafezinhos.

Em especial, às minhas filhas de quatro patas Lana, Celeste, Francisca e Vitória que me alegram diariamente com suas lambidas de bom dia, tornam meus dias mais suaves e me ensinam dia a dia o que é o amor verdadeiro.

E, finalmente, aos proprietários dos cães participantes deste projeto.

“A grande conquista é o
resultado de pequenas vitórias
que passam despercebidas.”

Paulo Coelho

RESUMO GERAL

Sepse é definida como a resposta inflamatória sistêmica desencadeada por uma infecção bacteriana, viral, fúngica ou presença de protozoários associada a sinais de repercussão sistêmica, já a disfunção orgânica é conhecido como sepsse grave. Os efeitos da sepsse sobre o sistema cardiovascular podem ser predominantes, ocorrendo, dessa forma, quadro clínico característico de depressão miocárdica, uma das principais causas de morte em cadelas com piometra. Diante disso, objetivou-se, neste estudo, avaliar a troponina I como biomarcador de lesão cardíaca na sepsse, além de outros parâmetros hematológicos em cadelas com piometra. Foi realizado um estudo prospectivo entre dezembro de 2013 e abril de 2015, realizado na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Dezenove cadelas com diagnóstico de piometra e 10 cadelas saudáveis. Os grupos avaliados não diferiram estatisticamente na avaliação da concentração sérica da troponina I cardíaca. A quantidade total de leucócitos (mm^3) e porcentagem de bastonetes foi significativamente maior no grupo sepsse ($23.221,74 \pm 16.848,80 \text{ mm}^3$ e $5,91 \pm 10,18 \%$) quando comparado ao grupo não sepsse ($14.492,86 \pm 6.828,26 \text{ mm}^3$ e $1,93 \pm 1,64 \%$) e grupo controle ($10.320,00 \pm 3.999,02 \text{ mm}^3$ e $1,65 \pm 2,05 \%$ respectivamente). Da mesma forma, elevações mais significativas nas concentrações séricas da enzima fosfatase alcalina foram verificadas no grupo sepsse ($347,72 \pm 300,18 \text{ U/L}$) comparado ao grupo não sepsse e grupo controle respectivamente ($174,71 \pm 150,93$ e $110,32 \pm 41,25$). Houve diferença significativa nas concentrações séricas da Proteína C reativa (mg/dL) no grupo sepsse ($19,57 \pm 41,69 \text{ mg/dL}$), se comparado ao grupo não sepsse ($10,29 \pm 12,02 \text{ mg/dL}$) e grupo controle ($3,60 \pm 3,53 \text{ mg/dL}$). Na avaliação da concentração sérica do lactato, houve diferença significativa entre cães com piometra e cães saudáveis, porém não houve diferença significativa entre os grupos sepsse e não sepsse. Os resultados do presente estudo indicam que a troponina I cardíaca não pôde ser considerada um biomarcador precoce para injúria miocárdica nos casos de cadela com piometra, pois os resultados das mensurações foram semelhantes entre os grupos, inferindo que pode não ter ocorrido lesão dos cardiomiócitos nesta fase. Já, a proteína C reativa e o lactato são possíveis marcadores para inflamação sistêmica, uma vez que demonstraram concentrações séricas significativamente maiores em cadelas com piometra.

Palavras-chave: Sepsse. Cães. Biomarcadores.

GENERAL ABSTRACT

Sepsis is defined as the systemic inflammatory response triggered by a bacterial, viral, fungal or protozoal presence of associated with systemic repercussions signals, and organ dysfunction is known as severe sepsis. The sepsis effects on the cardiovascular system are predominant. It is being a clinical picture of myocardial depression, one of the main causes of death in dogs with pyometra. the aim of this study was to evaluate troponin I as a biomarker of cardiac injury in sepsis, and other hematological parameters in female dogs with pyometra. A prospective study was conducted on December 2013 to April 2015, at University Federal of Lavras, Minas Gerais. Nineteen dogs diagnosed with pyometra and 10 healthy dogs. The groups did not differ in the assessment of serum cardiac troponin I. The total number of leukocytes (mm^3) and the percentage of rods was significantly higher in the sepsis group ($23.221,74 \pm 16.848,80 \text{ mm}^3$ e $5,91 \pm 10,18 \%$) compared to no sepsis group ($14.492,86 \pm 6.828,26 \text{ mm}^3$ e $1,93 \pm 1,64 \%$) and control group ($10.320,00 \pm 3.999,02 \text{ mm}^3$ e $1,65 \pm 2,05 \%$). The most significant elevations in serum concentrations of alkaline phosphatase enzyme were observed in sepsis group ($347,72 \pm 300,18 \text{ U/L}$) compared to no sepsis group and control group respectively ($174,71 \pm 150,93$ e $110,32 \pm 41,25$). There were significant differences in serum concentrations of C-reactive protein (mg / dL) in sepsis group ($19,57 \pm 41,69 \text{ mg/dL}$) compared compared to no sepsis group ($10,29 \pm 12,02 \text{ mg/dL}$) and control group ($3,60 \pm 3,53 \text{ mg/dL}$). In the evaluation of serum lactate concentration, there were significant difference between dogs with pyometra and healthy dogs, but there were no significant difference between the groups and no sepsis sepsis. The results of this study indicate that troponin I could not be considered an early biomarker for myocardial injury in cases of dog with pyometra, because the results of the measurements were similar between groups, inferring that may not have occurred injury of cardiomyocytes this stage. Furthermore C-reactive protein and lactate are markers for potential systemic inflammation, as demonstrated significantly higher serum concentrations in dogs with pyometra.

Keywords: Sepsis. Dogs. Biomarkers.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Média \pm desvio padrão (DP) da variável hematológica: leucócitos totais (mm^3), de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 de pós operatório).....46
- Tabela 2. Média \pm desvio padrão (DP) da variável hematológica: neutrófilos jovens (bastonetes) (%), de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 pós operatório).....46
- Tabela 3. Média \pm desvio padrão (DP) da troponina I (ng/ml) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (10 dias de pós operatório).47
- Tabela 4. Média \pm desvio padrão (DP) da Proteína C reativa (PCr) (mg/dl) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 de pós operatório).47
- Tabela 5. Média \pm desvio padrão (DP) do Lactato sérico (mmol/L) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (10 dias de pós operatório).....48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CID	Coagulação intravascular disseminada
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
HEC	Hiperplasia endometrial cística
IL-1	Interleucina 1
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
LPS	Lipopolissacarídeo
PCr	Proteína C reativa
PFA's	Proteínas de fase aguda
SDMO	Síndrome da disfunção de múltiplos órgãos
SRIS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
TNF - α	Fator de necrose tumoral α
UFLA	Universidade Federal de Lavras
UTI	Unidade de terapia intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
mmol/L	Milimol por litro
mg/L	Miligramas por litro
<	Menor
>	Maior
±	Mais ou menos
®	Marca registrada

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Proteínas de Fase Aguda	21
2.1.1	Proteína C Reativa	23
2.2	Lactato Sérico	24
2.3	Troponina I	26
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
	REFERÊNCIAS	30
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	36
	ARTIGO 1 Troponina I como biomarcador de lesão cardíaca em cães com sepse	36

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Sepse é definida como a resposta inflamatória sistêmica ocasionada por infecção bacteriana, viral, fúngica ou presença de protozoários associada a sinais de repercussão sistêmica (RABELO, 2012), presente na maioria dos cães com piometra, tendo sido associada ao aumento do tempo de hospitalização e mortalidade (HAGMAN, 2014), enquanto que a disfunção orgânica, conhecida como seps grave é uma das responsáveis pela falência orgânica (ABRAHAM; MATTHAY; DINARELLO, 2000).

Os efeitos da seps sobre o sistema cardiovascular predominam no paciente séptico, ocorrendo, dessa forma, quadro clínico característico de depressão miocárdica, uma das principais causas de morte em cadelas com piometra (MARETTA; MATTHIESEN; NICHOLS, 1989).

Em razão dos efeitos sistêmicos potencialmente letais induzidos pela doença, a utilização de marcadores prognósticos de morbidade, mortalidade e identificação da seps apresenta grande demanda na medicina veterinária (HAGMAN, 2014).

Portanto, a avaliação de marcadores cardíacos como a troponina I cardíaca, quantificação de determinados marcadores prognósticos como as proteínas de fase aguda, dentre elas a proteína C reativa e marcadores de hipóxia tecidual como o lactato sérico podem ser utilizados para identificar e prognosticar o paciente séptico ou com SRIS (KRISHNAGOPALAN; KUMAR; PARRILLO, 2002; NAKAMURA et al., 2007; STEVENSON et al., 2007).

Objetivou-se, neste estudo, discutir os principais parâmetros clínicos, hematológicos e cardiológicos com enfoque na avaliação da troponina I, no intuito de buscar novas ferramentas para traçar um perfil precoce da síndrome

SRIS/sepsis e, dessa maneira, prevenir ou evitar as graves consequências que culminam num prognóstico reservado a desfavorável e até mesmo ao óbito do paciente séptico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Sepse é considerada atualmente uma das doenças mais fatais. Estima-se que em torno de 20 a 30 milhões de pessoas sejam acometidas anualmente (REINHART; DANIEL; MACHADO, 2013). No Brasil, estudos demonstram incidências de aproximadamente 58 casos de sepse para mil pacientes em unidades de terapia intensiva, chegando às taxas de letalidade superiores a 50% (SALES JUNIOR et al., 2006; SIQUEIRA-BATISTA et al., 2011).

Sepse é definida como a resposta inflamatória sistêmica à infecção bacteriana, viral, fúngica ou presença de protozoários associada a sinais de repercussão sistêmica (RABELO, 2012), sendo a principal causa de morte em pacientes humanos (LEWIS et al., 2012).

Sepse associada à disfunção orgânica, hipoperfusão ou hipotensão é denominada de sepse grave. Já, o choque séptico ocorre quando há quadro de hipotensão persistente não responsiva à terapia de fluidoterapia acompanhada de hipoperfusão e disfunção orgânica (ZAVARIZ et al., 2006).

A fisiopatologia da sepse permanece incompreendida. Uma infinidade de tipos celulares, mediadores inflamatórios e fatores de coagulação estão envolvidos e há pesquisas recentes que reportam sobre a contribuição do sistema imune inato e células T na síndrome (LEWIS et al., 2012).

A resposta do hospedeiro envolve a ativação de mediadores pró e anti-inflamatórios, assim como reações celulares e humorais as quais contribuem para alterações no tônus vascular, função cardíaca, fluxo sanguíneo entre os órgãos e fluxo da microcirculação (SILVERSTEIN; SANTORO-BEER, 2015).

Sepse e choque séptico ocorrem, em decorrência a inflamação sistêmica. O comprometimento da microcirculação se dá por meio da ativação do endotélio, havendo alteração do estado normal anticoagulante para pró-

coagulante, aumento da adesão de leucócitos e plaquetas (ZAVARIZ et al., 2006).

Os efeitos generalizados que ocorrem na sepse são resultantes do ingresso de endotoxinas, as quais induzem a liberação celular na circulação de pequenas proteínas, as citocinas, que induzem respostas por meio de ligação a receptores específicos (ZAVARIZ et al., 2006).

Primeiramente, ocorre a liberação do fator de necrose tumoral (TNF- α), seguido das interleucinas 1 (IL-1), 6 (IL-6) e 8 (IL-8), denominadas de citocinas pró-inflamatórias. Dentre estas, o TNF- α e IL-1 são os principais mediadores endógenos envolvidos na resposta inflamatória (ZAVARIZ et al., 2006).

O TNF- α é uma citocina importante que atua no controle da infecção local, porém, se liberado sistemicamente, ocasiona perda de volume plasmático e vasodilatação e induz o choque. Na ocorrência de choque séptico, o TNF- α atua de forma semelhante conduzindo a coagulação intravascular disseminada (CID), induzindo a formação de coágulos na microcirculação e consumo de proteínas de coagulação, ocasionando perda da capacidade de coagulação sanguínea, podendo acarretar em falência orgânica (ZAVARIZ et al., 2006).

A IL-1 em condições normais favorece a ativação e maturação dos linfócitos, porém no choque séptico, quando liberada em níveis elevados, se comporta como mediador humoral danoso, ocasionando hipermetabolismo, alterações sanguíneas, febre, proteólise muscular e aumento de neutrófilos e linfócitos. Já, a IL-6 atua no crescimento e diferenciação de células T e B e na produção das proteínas de fase aguda, por meio dos hepatócitos (ZAVARIZ et al., 2006).

Os mediadores liberados na sepse induzem hipotensão, febre, disfunção respiratória e anorexia (BOLLER; OTTO, 2009; SILVA et al., 2006).

Os sinais clínicos da sepse variam com a fase em que o paciente se encontra. Se este for examinado numa fase precoce, os sinais clínicos vão refletir

um metabolismo hiperdinâmico e podem ser observados febre, taquicardia, mucosas congestas, taquipneia, tempo de preenchimento capilar aumentado e enchimento jugular normal (PAIXÃO, 2005; RABELO, 2012).

Assim que o quadro clínico começa a evoluir negativamente, o paciente pode progredir para a fase de sepse grave, quando há manifestações de disfunção orgânica (ABRAHAM; MATTHAY; DINARELLO, 2000) e, posteriormente, para choque séptico (RABELO, 2012). No choque séptico pode ocorrer presença de hipotermia, extremidades frias, mucosas pálidas, pulso fraco, fraqueza muscular, tempo de enchimento jugular aumentado ou ausência de enchimento, melena e evolução para coma, além de apatia, pressão sistólica abaixo de 90 mmHg, e hipoglicemia (PAIXÃO, 2005).

Nessa fase, os pacientes podem apresentar disfunção de múltiplos órgãos como agravante da síndrome (PAIXÃO, 2005). Em pessoas, a síndrome da disfunção de múltiplos órgãos (SDMO) é uma seqüela comum de sepse ou choque séptico, podendo ocorrer secundária a traumas, neoplasias e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) (OSTERBUR et al., 2014).

Estima-se que 15% das pessoas internadas em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) desenvolveram a SDMO, sendo a taxa de mortalidade para esses pacientes em torno de 44 a 76%, enquanto que em cães há relatos de que a taxa de mortalidade de cães que desenvolveram a SDMO esteja em torno de 4%, quando a causa primária é um trauma e de até 50% na sepse (OSTERBUR et al., 2014).

Dentre os órgãos afetados pela resposta que ocorre na sepse ou choque séptico, o coração é um dos órgãos mais afetados, acarretando depressão miocárdica. A disfunção cardiovascular é caracterizada pela dilatação biventricular, diminuição da fração de ejeção, hipotensão e diminuição da resposta às catecolaminas. A causa dessa disfunção muitas vezes é multifatorial, porém a maioria das vezes está associada à substâncias que acarretam

diminuição da contratilidade cardíaca e dano mitocondrial (OSTERBUR et al., 2014).

Em medicina e medicina veterinária, o conceito de disfunção cardiovascular relacionado com a vasculatura periférica é definida como uma hipotensão arterial não responsiva a reanimação volêmica, a qual necessita de terapia vasopressora (OSTERBUR et al., 2014). Acredita-se que o dano que o miocárdio sofre, secundário ao quadro de sepse, seja uma das principais causas de morte em seres humanos em UTI's, assim como em cadelas com piometra (MARETTA; MATTHIESEN; NICHOLS, 1989).

A realização de exames cardiológicos assim como a quantificação de proteínas de fase aguda, lactato sérico e troponina I podem ser utilizados para identificar e prognosticar o paciente séptico ou com SRIS (KRISHNAGOPALAN; KUMAR; PARRILLO, 2002; NAKAMURA et al., 2007; STEVENSON et al., 2007). Dentre as condições rotineiras que predispõem os cães à sepse, destaca-se a piometra.

Piometra é uma doença comum em fêmeas, caracterizada por infecção uterina bacteriana, havendo acúmulo de material purulento no útero e, em determinadas situações, associada à doença sistêmica que pode levar o paciente ao óbito (HAGMAN, 2012). A ocorrência dessa afecção está relacionada à idade da paciente, principalmente cadelas de meia idade a idosas, podendo ser relatada em cadelas jovens (DABROWSKI; KOSTRO; SZCZUBIAL, 2013; HAGMAN, 2012).

É considerada uma doença emergencial, em razão do prognóstico do paciente estar diretamente relacionado com diagnóstico e intervenção terapêutica precoces. É importante identificar se o paciente demanda maiores cuidados e acompanhamento intensivos no momento da admissão, em decorrência do risco de ruptura uterina, endotoxemia e sepse, quadros clínicos estes que podem fazer

com que uma piometra clinicamente estável torne-se emergencial em poucas horas (HAGMAN, 2014).

O reconhecimento e diagnóstico da piometra podem ser simples nos casos de piometra aberta, porém pode se tornar um desafio na ausência de secreção (HAGMAN, 2012). O diagnóstico pode ser realizado com base no histórico clínico, exame físico, análises sanguíneas, ultrassonografia e/ou radiografia, cultura bacteriológica ou citologia da secreção vaginal, porém a amostragem bacteriológica da secreção vaginal não é indicativo de infecção, em decorrência da flora vaginal de cadelas saudáveis apresentar as mesmas espécies bacterianas de cadelas com piometra (HAGMAN, 2014).

A patogênese não é totalmente esclarecida, mas acredita-se que o desequilíbrio hormonal ou resposta anormal às concentrações normais de estrógeno e progesterona afeta as células epiteliais do útero facilitando, assim, a adesão, colonização e crescimento bacteriano (FIENI; TOPIE; GOGNY, 2014; HAGMAN 2014).

Adicionalmente, a utilização de estrógeno, para evitar o processo de nidação e progestágenos, para sincronizar o estro e a ovulação também contribuem para o desenvolvimento da piometra em cadelas (KEMPISTY et al., 2013). A taxa de mortalidade na piometra é relativamente baixa, porém aumenta em casos de complicações como peritonite séptica (HAGMAN, 2014).

O agente etiológico mais comumente envolvido nas piometras são bactérias gram negativas, *Escherichia coli* (E. coli) em 70% dos casos aproximadamente (HAGMAN, 2012). Estas se aderem aos receptores de progesterona no endométrio, estabelecendo, dessa maneira, a infecção (FIENI; TOPIE; GOGNY, 2014; HAGMAN, 2014).

A endotoxemia ocasionada pela infecção bacteriana e distúrbios de coagulação é considerada uma das consequências mais graves da infecção uterina, podendo culminar na Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

(SRIS) e sepse, esta última responsável pelo maior tempo de internação e prognóstico mais reservado (DABROWSKI; KOSTRO; SZCZUBIAL, 2013; HAGMAN, 2012).

Cadelas com piometra apresentam mudanças significativas no perfil hematológico, parâmetros bioquímicos, assim como aumentos nos níveis sanguíneos da proteína C reativa (SHARIF et al., 2013).

Ocorre presença de leucocitose com neutrofilia e desvio à esquerda, monocitose, linfocitose, podendo ocorrer, ocasionalmente, presença de leucopenia, relacionada a um prognóstico desfavorável. Anemia normocítica normocrômica com conseqüente redução da eritropoiese, em razão da toxicidade que a medula óssea sofre durante a infecção e escassez de ferro disponível, ocasionada pela perda de hemácias para o útero, são alterações laboratoriais que refletem cronicidade da doença (HAGMAN, 2012; HAGMAN, 2014).

2.1 Proteínas de Fase Aguda

A utilização de proteínas de fase aguda (PFAs) para avaliar e prognosticar doenças em animais tem aumentado significativamente na última década, em razão do aumento no conhecimento da interpretação dos resultados, assim como ao acesso a ensaios adequados para sua detecção (KANN et al., 2012; KJELGAARD-HANSEN; JACOBSEN, 2011; MYLONAKIS et al., 2011).

A resposta de fase aguda é uma reação sistêmica complexa que surge rapidamente em resposta a diversas condições como inflamação aguda ou crônica, infecção, injúria tecidual, traumas, cirurgias, neoplasias e distúrbios imunológicos. Sua gravidade depende da natureza e o tipo de estímulo (DABROWSKI; WAWRON, 2014; KANN et al., 2012).

Citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8) e anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) possuem papel fundamental na indução e modulação da resposta de fase aguda. Um dos primeiros sintomas relacionados a essa resposta é a febre, resultado da presença de citocinas pró-inflamatórias (DABROWSKI; WAWRON, 2014).

Durante a resposta de fase aguda, podem ocorrer alterações nas concentrações séricas das PFAs (DABROWSKI; WAWRON, 2014). As PFAs constituem um grupo de proteínas que sofrem mudanças repentinas em sua concentração sanguínea, mediante a presença de inflamação ou injúria tecidual (CERON; ECKERSALL; MARTYNEZ- SUBIELA, 2005; MYLONAKIS et al., 2011). Alcançam concentrações máximas 24 horas após a lesão tecidual (VIITANEN et al., 2014).

As PFAs são sintetizadas pelos hepatócitos e participam da resposta inflamatória inicial, mediada pelas citocinas pró-inflamatórias. Dispõem de variadas funções auxiliando na homeostase corporal, inibição da quimiotaxia e modulação de neutrófilos, indução de citocinas e formação de anticorpos (BATTISTI et al., 2013; SHARIF et al., 2013). São consideradas indicadores fidedignos da resposta sistêmica frente aos processos inflamatórios e infecciosos, quando comparadas a outras variáveis, como febre, aumento da taxa de hemossedimentação ou presença de leucocitose associados à neutrofilia (JAIN, 1989). Vários estudos têm demonstrado as PFAs como marcadores inflamatórios valiosos em cadelas com piometra (SHARIF et al., 2013).

As PFAs são classificadas como positivas e negativas. Aquelas que apresentam elevação sérica frente a processos infecciosos, inflamatórios ou neoplásicos em pelo menos 25% são denominadas positivas, enquanto que aquelas cuja concentração diminui são denominadas negativas (BATTISTI et al., 2013; DABROWSKI; WAWRON, 2014).

As PFAs positivas são subdivididas em positivas maiores e moderadas. A PFA positiva maior apresenta elevação rápida da sua concentração em torno de 100 a 1000 vezes durante sua estimulação, retornando aos valores basais também de forma rápida em torno de 24 a 48 horas. Já, a PFA positiva moderada apresenta elevação na sua concentração de maneira mais lenta, permanecendo elevada por mais tempo, em torno de 48 a 72 horas (BATTISTI et al., 2013; ECKERSSAL; BELL, 2010).

Em cães, as principais PFAs positivas maiores são a proteína C reativa (PCr), haptoglobina e amiloide sérico A, as quais têm sido identificadas como marcadores diagnósticos importantes em diferentes enfermidades (BATTISTI et al., 2013; DABROWSKI; WAWRON, 2014; ECKERSSAL; BELL, 2010).

2.1.1 Proteína C Reativa

A concentração sérica das principais proteínas de fase aguda podem elevar centenas de vezes durante uma doença inflamatória sistêmica como resultado da síntese alterada dessas proteínas no fígado (HILLSTRÖM et al., 2014). Recentemente, alguns estudos sobre biomarcadores que podem ser úteis no diagnóstico ou prognóstico em medicina veterinária foram publicados (JITPEAN et al., 2014).

A Proteína C reativa (PCr), um desse biomarcadores, é uma das principais proteínas de fase aguda em cães, normalmente sintetizada em baixas doses pelos hepatócitos (KARLSSON et al., 2013; LIAO et al., 2014; VENCO et al., 2014). É um teste diagnóstico valioso nessa espécie, utilizado para detectar a presença de inflamação sistêmica e monitorar a progressão da doença assim como a resposta ao tratamento (HILLSTRÖM et al., 2014; PLICKERT et al., 2013; VENCO et al., 2014).

Sabe-se que a PCr apresenta aumentos séricos em vários processos infecciosos, doenças imunomediadas, neoplasias e traumatismo, além de ser útil na diferenciação da hiperplasia endometrial cística de piometra (JITPEAN et al., 2014; LIAO et al., 2014; PLICKERT et al., 2013; VENCO et al., 2014; VIITANEN et al., 2014).

Em pacientes humanos a PCr é uma das principais PFA, tem-se mostrado um excelente marcador diagnóstico para sepse e outros distúrbios inflamatórios (CASTELLI; POGNANI; MEISNER, 2004; ECKERSSAL; BELL, 2010; RENY; VUAGNAT; RACT, 2002).

Após a estimulação por citocinas pró-inflamatórias, as concentrações séricas da PCr podem elevar significativamente mais de 1000 vezes (LIAO et al., 2014). Existe uma variação considerável na fisiopatologia da PCr entre as espécies, e em cães, sua concentração sérica pode aumentar rapidamente de <1mg/L a > 100mg/L em diversas doenças infecciosas como leishmaniose, leptospirose e em situações de endotoxemia ocasionada por *E. coli* (ECKERSSAL; BELL, 2010).

Em estudo realizado por Wong et al. (2011), para validar a concentração sérica da proteína C reativa em cães saudáveis da raça Schnauzer miniatura, foi determinado que a concentração sérica média da PCr nessa raça foi de 4,0 mg/L com uma concentração mínima e máxima de 0 a 18,2mg/L, sendo essa concentração sérica significativamente mais elevada quando comparada a outras raças de cães, em que a média da concentração sérica foi de 0,1 mg/L, com concentração mínima e máxima de 0 a 10,7 mg/L.

2.2 Lactato Sérico

Diversos estudos têm demonstrado que a mensuração do lactato sanguíneo apresenta alto valor diagnóstico e prognóstico em pacientes humanos

e veterinários internados em UTIs, por esse motivo é considerado um biomarcador útil e confiável (BUENO et al., 2012; PORTER et al., 2013; REDAVID et al., 2012). O Lactato é o produto final do metabolismo anaeróbico apresentando concentrações sanguíneas elevadas em condições de hipóxia tecidual, refletindo dessa maneira o desequilíbrio entre a demanda de oxigênio e a entrega de oxigênio tecidual (CORTELLINI; SETH; KELLETT-GREGORY, 2015; REDAVID et al. 2012).

Hiperlactatemia é o resultado de um desequilíbrio entre a produção e utilização do lactato, ocasionada pelo aumento da glicólise em condições anaeróbicas, baixa perfusão tecidual acarretando em condições anaeróbicas ou a utilização hepática e renal do lactato diminuída. Classicamente, a hiperlactatemia está associada à hipoperfusão decorrente do quadro clínico de choque (hipovolêmico, cardiogênico ou séptico), hipoperfusão local como trombose e torção de órgãos, hipoxemia ou convulsões (STEVENSON et al., 2007).

Estudos em diferentes populações criticamente doentes sugerem que a mensuração seriada da concentração de lactato é um indicador de prognóstico mais significativo do que uma única mensuração no momento da admissão do paciente (CORTELLINI; SETH; KELLETT-GREGORY, 2015; HAGMAN et al., 2009).

Tanto a concentração inicial do lactato sérico como a duração da hiperlactatemia pode ser utilizada para prognosticar a sobrevivência ou óbito em pacientes humanos traumatizados. Em pacientes humanos sépticos (adultos e crianças), os níveis séricos do lactato foram relacionados com a gravidade da doença e presença de acidose metabólica (HAGMAN et al., 2009).

Em cães, valores na concentração plasmática $< 2,5$ mmol/L são considerados normais, enquanto que valores > 5 mmol/L são considerados

aumentos moderados e > 7 mmol/L aumentos acentuados (PORTER et al., 2013).

Alguns trabalhos já demonstraram valores de lactato em cães adultos, como Hughes et al. (1999), no qual o valor do lactato foi de $1,57 \pm 0,47$ mmol/L e Lagutchik et al., 1998, no qual o valor foi de 1,1 a 2,5 mmol/L.

2.3 Troponina I

Anormalidades cardiovasculares são frequentes na sepse e no choque séptico e podem resultar em lesão miocárdica sem relação com doença arterial coronariana. A troponina é uma proteína encontrada em fibras musculares esqueléticas e cardíacas que são responsáveis pela contração muscular. É composta por três subunidades: troponina C (se liga ao cálcio para ocasionar alterações na conformação da troponina I), troponina T (ligada a tropomiosina) e troponina I (ligada à actina) (LEWIS, 2012; SHEYIN et al., 2015; TIRUVOIPATI; SULTANA; LEWIS, 2012).

Um método laboratorial sugerido para a avaliação do comprometimento da função miocárdica na sepse é a mensuração dos níveis séricos da troponina I cardíaca (TURNER; TSAMITROS; BELLOMO, 1999), um dos biomarcadores cardíacos mais importantes, considerado padrão “ouro” para o diagnóstico não invasivo de lesões miocárdicas em humanos (SHEYIN et al., 2015; THARWAT; AL-SOBAYIL; AL-SOBAYIL, 2012).

A troponina I cardíaca é encontrada apenas no coração sendo expressa exclusivamente pelo miocárdio e está especialmente associada às miofibrilas, embora pequenas quantidades estejam presentes também no citosol (DUNN et al., 2011). Normalmente, não são detectáveis na circulação, por estarem presentes em pequenas quantidades. No entanto, quando há um dano à célula do miocárdio, a troponina é liberada na circulação e pode ser mensurada por meio

de métodos de imunoensaio (HAMACHER et al., 2015; SHEYIN et al., 2015; TIRUVOIPATI; SULTANA; LEWIS, 2012).

Sua elevação em pacientes sépticos é comum, porém seu papel para prognosticar o paciente em sepse ainda é bastante debatido (TIRUVOIPATI; SULTANA; LEWIS, 2012).

Muitos estudos têm relatado o aumento da mortalidade de pacientes sépticos associado à elevação da troponina, porém há estudos que contradizem esses dados, justificando diferenças no tipo de infecção, isquemia e dano direto ao miocárdio por endotoxinas, citocinas ou radicais livres, diferenças nos ensaios da troponina, limiares de corte para elevação da troponina ou, até mesmo, diferenças no intervalo de tempo de mensuração (SHEYIN et al., 2015; TIRUVOIPATI; SULTANA; LEWIS, 2012).

Por ser considerada um biomarcador altamente específico de lesão dos cardiomiócitos, o aumento nas concentrações séricas são altamente sensíveis e específicas de lesões no tecido miocárdico em humanos e animais de laboratório (DUNN et al., 2011) e tem sido relatada sua elevação em mais de 50% dos pacientes com choque séptico (TURNER; TSAMITROS; BELLOMO, 1999).

Elevações séricas discretas na troponina I sem associação a sinais clínicos de cardiopatia não determinam diagnóstico definitivo, no entanto sua elevação sérica em conjunto com sinais clínicos, achados eletrocardiográficos e ecocardiográficos, ou elevações séricas acentuadas isoladas podem transformá-la em um importante biomarcador para doenças miocárdicas (THARWAT; AL-SOBAYIL; AL-SOBAYIL, 2012).

O momento certo para mensuração da troponina I para detectar lesão miocárdica ainda é bastante questionável. Em seres humanos, a troponina é detectável na circulação, entre 3 a 12 horas após a lesão e as concentrações começam a se elevar e atingem o pico em 12 a 48 horas e diminuem após 5 a 10 dias (HAMACHER et al., 2015).

Sua detecção sugere a presença de lesão miocárdica mesmo que discreta, sem diminuição do débito cardíaco, já que sua positividade associa-se a graus variados de disfunção ventricular esquerda (MEBAZAA; TAVERNIER; CALLEBERT, 2002; TURNER; TSAMITROS; BELLOMO, 1999).

A troponina I cardíaca é um fator preditivo independente de mortalidade, duração da internação na terapia intensiva e necessidade de terapia com vasopressores. O estudo da troponina I na sepse tem o potencial de elucidar muitas dúvidas da fisiopatologia do miocárdio nessa condição (MEHTA; KHAN; VIRIN, 2002).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Piometra é considerada uma enfermidade frequente em fêmeas adultas ou idosas não castradas. O diagnóstico tardio ou ausência de tratamento pode levar a paciente a óbito. Uma das consequências mais graves relacionada ao quadro de endotoxemia em pacientes diagnosticadas com piometra é a evolução para a síndrome SRIS/sepse, a qual culmina em disfunção cardíaca que está diretamente relacionada a altos índices de mortalidade.

A avaliação das concentrações séricas da troponina I cardíaca em conjunto com perfil clínico e hematológico torna-se importante para que seja possível traçar um perfil precoce da síndrome SIRS/sepse e evitar consequências que culminem em prognóstico reservado a desfavorável ou, até mesmo, ao óbito das pacientes.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, E.; MATTHAY, M. A.; DINARELLO, C. A. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. **Critical Care Medicine**, Baltimore, v. 28, n. 1, p. 232-235, Jan. 2000.
- BATTISTI, M. K. B. et al. Proteínas de fase aguda em cadelas com neoplasia mamária. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 5, p. 902-907, maio 2013.
- BOLLER, E. M.; OTTO, C. M. Sepsis. In: SILVERSTEIN, D. C.; HOPPER, K. **Small animal critical care medicine**. Saint Louis: Saunders, 2009. p. 454-458.
- BRADY, C. A.; OTTO, C. M. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunctions. **The Veterinary Clinics of North America. Small animal practice**, Philadelphia, v. 31, n. 6, p. 1147-1162, Nov. 2001.
- BUENO, L. M. C. et al. Concentração de lactato e glicemia em cadelas e neonatos nascidos de cesariana. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 6, p. 1442-1448, dez. 2012.
- CASTELLI, G. P.; POGNANI, C.; MEISNER, M. Procalcitonin and C reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction. **Critical Care**, Philadelphia, v. 8, n. 4, p. 234-242, 2004.
- CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTYNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 34, n. 2, p. 85-99, June 2005.
- CORTELLINI, S.; SETH, M.; KELLETT-GREGORY, L. M. Plasma lactate concentration in septic peritonitis: a retrospective study of 83 dogs (2007-2012). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 25, n. 3, p. 388-395, May/June 2015.
- DABROWSKI, R.; KOSTRO, K.; SZCZUBIAL, M. Concentrations of C – reactive protein, sérum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial e peripheral blood in bitches with pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v. 80, n. 5, p. 494-497, Sept. 2013.

DABROWSKI, R.; WAWRON, W. Acute-phase response in monitoring postoperative recovery in bitches after ovariohysterectomy. **Annals of Animal Science**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 287-295, Apr. 2014.

DUNN, M. E. et al. The complete pharmacokinetic profile of sérum cardiac troponin I in the rat and the dog. **Toxicological Sciences**, Oxford, v. 123, n. 2, p. 368-373, Oct. 2011.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, London, v. 185, n. 1, p. 23-27, July 2010.

FIENI, F.; TOPIE, E.; GOGNY, A. Medical treatment for pyometra in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 28-32, June 2014. Suplemento.

HAGMAN, R. Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 47, n. 6, p. 323-325, Dec. 2012. Suplemento.

HAGMAN, R. Diagnostic and prognostic markers for uterine diseases in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 16-20, June 2014. Suplemento.

HAGMAN, R. et al. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 51, n. 2, p. 1-9, Jan. 2009.

HAGMAN, R.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT, A. S. Pyometra in bitches induces elevated plasma endotoxin and prostaglandin F_{2α} metabolite levels. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 47, n. 1, p. 55-68, 2006.

HAMACHER, L. et al. Serum cardiac troponin I concentration in dogs with systemic inflammatory response syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 29, n. 1, p. 164-170, Jan. 2015.

HILLSTRÖM, A. et al. Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v.43, n.2, p. 235-243, June 2014.

HUGHES, D. et al. Effect of sampling site, repeated sampling, pH, and PCO₂ on plasma lactate concentration in healthy dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 60, n. 4, p. 521-524, Apr. 1999.

JAIN, N. C. Acute phase proteins. In: KIRK, R. W. **Current veterinary therapy X: small animal practice**. Philadelphia: Saunders, 1989. p. 468-471.

JITPEAN, S. et al. Serum insulin-like growth factor-I, iron, C-reactive protein, and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v. 82, n. 1, p. 43-48, July 2014.

KALRSSON, I. et al. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 156, n. 1-2, p. 64-72, Nov. 2013.

KANN, R. K. C. et al. Acute phase proteins in healthy and sick cats. **Research in Veterinary Science**, London, v. 93, n. 2, p. 649-654, Oct. 2012.

KEMPISTY, B. et al. Endometritis and pyometra in bitches: a review. **Veterinari Medicina**, Praha, v. 58, n. 6, p. 289-297, 2013.

KJELGAARD-HANSEN, M.; JACOBSEN, S. Assay validation and diagnostic applications of major acute-phase protein testing in companion animals. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 31, n. 1, p. 51-70, Mar. 2011.

KRISHNAGOPALAN, S.; KUMAR, A.; PARRILLO, J. E. Myocardial dysfunction in the patient with sepsis. **Current Opinion in Critical Care**, Philadelphia, v. 8, n. 5, p. 376-388, Oct. 2002.

LAGUTCHIK, M.S.; OGILVIE, G.K.; WINGFIELD, W.E. et al. Increased lactate concentration in ill and injured dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 8, n. 2, p. 117-127, May 1998.

LEWIS, D. H. et al. The immunopathology of sepsis: pathogen recognition, systemic inflammation, the compensatory anti-inflammatory response, and regulatory T cells. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 26, n. 3, p. 457-482, May/June 2012.

LIAO, P. et al. Decreased postoperative C-reactive protein production in dogs with pyometra through the use of low-dose ketamine. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 24, n. 3, p. 286-290, May/June 2014.

MARETTA, S. M.; MATTHIESEN, D. T.; NICHOLS, R. Pyometra and its complications. **Problem in Veterinary Medicine**, Philadelphia, v. 1, n. 1, p. 50-62, Jan./Mar. 1989.

MEBAZAA, A.; TAVERNIER, B.; CALLEBERT, J. Heart dysfunction in human septic shock. **Clinical Pulmonary Medicine**, Oxford, v. 9, n. 4, p. 206-212, July 2002.

MEHTA, N. J.; KHAN, I. A.; VIRIN, G. Myocardial injury predicts myocardial dysfunction and poor outcome in sepsis syndrome. **Chest**, Chicago, v. 122, p. 14-15, 2002.

MYLONAKIS, M. E. et al. Serum acute phase proteins as clinical phase indicators and outcome predictors in naturally occurring canine monocytic ehrlichiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 25, n. 4, p. 811-817, July/Aug. 2011.

NAKAMURA, M. et al. C-Reactive protein concentration in dogs with various diseases. **Journal of Veterinary Medicine Science**, Tokyo, v. 70, n. 2, p. 127-131, Feb. 2007.

OSTERBUR, K. et al. Multiple organ dysfunction syndrome in humans and animals. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 28, n. 4, p. 1141-1151, July/Aug. 2014.

PAIXÃO, N. Sepsis e síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS). In: RABELO, R. C.; CROWE JÚNIOR, D. T. **Fundamentos de terapia intensiva veterinária em pequenos animais**. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária, 2005, p. 113-126.

PATIL, A. R. et al. Clinico-haematological and serum biochemical alterations in pyometra affected bitches. **African Journal of Biotechnology**, África, v. 12, n. 13, p. 1564-1570, Mar. 2013.

PLICKERT, H. D. et al. Evaluation of a point-of-care test for canine C-reactive protein. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 40, n. 3, p. 384-388, Sept. 2013.

PORTER, A. E. et al. Evaluation on shock index in dogs presenting as emergencies. **Journal of Veterinary and Critical Care**, San Antonio, v. 23, n. 5, p. 538-544, Sept./Oct. 2013.

PRETZER, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. **Theriogenology**, Stoneham, v. 70, n. 3, p. 359-363, Aug. 2008.

RABELO, R. C. Sepsis, sepsis grave e choque séptico. In: RABELO, R. C. **Emergências de pequenos animais: condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 322-340.

REDAVID, L. A. et al. Plasma lactate measurements in healthy cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 22, n. 5, p. 580-587, Oct. 2012.

REINHART, K.; DANIEL, R.; MACHADO, F. R. O onus da sepsis: uma chamada em apoio ao Dia Mundial da Sepsis 2013. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 1, p. 3-5, 2013.

RENY, J. L.; VUAGNAT, A.; RACT, C. Diagnosis and follow up of infections in intensive care patients. Value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables. **Critical Care Medicine**, Baltimore, v. 30, n. 3, p. 529-535, Mar. 2002.

SALES JUNIOR, J. A. L. et al. Sepsis Brasil: estudo epidemiológico da sepsis em unidades de terapia intensiva brasileiras. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 9-17, jan./mar. 2006.

SHARIF, H. et al. Elevation of serum thymidine kinase 1 in a bacterial infection: canine pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v. 79, n. 1, p. 17-23, Jan. 2013.

SHEYIN, O. et al. The prognostic significance of troponin in patients with sepsis: a meta-analysis. **Heart Lung**, Saint Louis, v. 44, n. 1, p. 75-81, Jan./Feb. 2015.

SILVA, E. et al. Sepsis e choque séptico. In: KNOBEL, E. **Condutas no paciente grave**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2006. p. 61-78.

SILVERSTEIN, D. C.; SANTORO-BEER, K. A. Controversies regarding choice of vasopressor therapy for management of septic shock in animals. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 25, n. 1, p. 48-54, Jan./Feb. 2015.

- SIQUEIRA-BATISTA, R. et al. Sepsis: atualidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 207-216, abr./jun. 2011.
- STEVENSON, C. K. et al. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 36, n. 3, p. 234-239, Sept. 2007.
- THARWAT, M.; AL-SOBAYIL, F.; AL-SOBAYIL, K. The cardiac biomarkers troponin I and CK-MB in nonpregnant and pregnant goats, goats with normal birth, goats with prolonged birth, and goats with pregnancy toxemia. **Theriogenology**, Stoneham, v. 78, n. 7, p. 1500-1507, Oct. 2012.
- TIRUVOIPATI, R.; SULTANA, N.; LEWIS, D. Cardiac troponin I does not independently predict mortality in critically ill patients with severe sepsis. **Emergency Medicine Australasia**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 151-158, Apr. 2012.
- TURNER, A.; TSAMITROS, M.; BELLOMO, R. Myocardial cell injury in septic shock. **Critical Care Medicine**, Baltimore, v. 27, n. 9, p. 1775-1780, Sept. 1999.
- VENCO, L. et al. Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: a field study. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 206, n. 1-2, p. 48-54, Nov. 2014.
- VIITANEM, S. J. et al. Serum C reactive proteins as a diagnostic biomarker in dogs with bacterial respiratory diseases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 28, n. 1, p. 84-91, Jan./Feb. 2014.
- WONG, V. M. et al. Serum C reactive protein concentrations in healthy miniature Schnauzer dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v. 40, n. 3, p. 380-383, Sept. 2011.
- ZAVARIZ, S. M. R. et al. Marcadores laboratoriais do choque séptico. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 16, n. 1, p. 29-37, 2006.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO 1 Troponina I como biomarcador de lesão cardíaca em cães com sepsis

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM O PERIÓDICO ARQUIVO
BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA E
ADEQUADO A VERSÃO FINAL DE IMPRESSÃO DA UFLA.**

Troponina I como biomarcador de lesão cardíaca em cães com sepse

Troponin I as a biomarker of cardiac injury in dogs with sepsis

Camila Santos Pereira^{1*}, Ruthnea Aparecida Lázaro Muzzi¹, Vânia Chaves de Figueiredo¹, Leonardo Augusto Lopes Muzzi¹, Guilherme Oberlender², Antonio Carlos Cunha Lacreata Junior¹, Moacir Leomil Neto³, Marina Martins de Oliveira¹

¹Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras – MG;

²Instituto Federal do Sul de Minas (IFSULDEMINAS), Campus Muzambinho – MG

³Centro Veterinário, Universidade Católica de Minas Gerais (PUC POÇOS DE CALDAS), Campus Poços de Caldas – MG.

*Autor para correspondência: camilinhasp19@hotmail.com

RESUMO

Avaliou-se a troponina I como biomarcador de lesão cardíaca na sepse, além de outros parâmetros hematológicos em cadelas com piometra. Os grupos avaliados não diferiram estatisticamente na avaliação da concentração sérica da troponina I cardíaca. A quantidade total de leucócitos (mm^3) e porcentagem de bastonetes foi significativamente maior no grupo sepse ($23.221,74 \pm 16.848,80 \text{ mm}^3$ e $5,91 \pm 10,18 \%$) quando comparado ao grupo não sepse ($14.492,86 \pm 6.828,26 \text{ mm}^3$ e $1,93 \pm 1,64 \%$) e grupo controle ($10.320,00 \pm 3.999,02 \text{ mm}^3$ e $1,65 \pm 2,05 \%$ respectivamente). Houve diferença significativa nas concentrações séricas da Proteína C reativa (mg/dL) no grupo sepse ($19,57 \pm 41,69 \text{ mg/dL}$) se

comparado ao grupo não sepse ($10,29 \pm 12,02$ mg/dL) e grupo controle ($3,60 \pm 3,53$ mg/dL). Na avaliação da concentração sérica do lactato, houve diferença significativa entre cães com piometra e cães saudáveis, porém não houve diferença significativa entre os grupos sepse e não sepse. Os resultados do presente estudo indicam que a troponina I cardíaca não pôde ser considerada um biomarcador precoce para injúria miocárdica nos casos de cadela com piometra, pois os resultados das mensurações foram semelhantes entre os grupos, inferindo que pode não ter ocorrido lesão dos cardiomiócitos nesta fase. Já a proteína C reativa e o lactato são possíveis marcadores para inflamação sistêmica, uma vez que demonstraram concentrações séricas significativamente maiores em cadelas com piometra.

Palavras-chave: sepse, cães, biomarcadores

ABSTRACT

Troponin I as a biomarker of cardiac injury in sepsis, and other hematological parameters in female dogs with pyometra were evaluated. The groups did not differ in the assessment of serum cardiac troponin I. The total amount of leukocytes (mm^3) and percentage of band cells was significantly higher in sepsis group ($23,221.74 \pm 16,848.80 \text{ mm}^3$ and $5.91 \pm 10.18\%$) compared to the group not sepsis ($14,492.86 \pm 6,828.26 \text{ mm}^3$ and $1.93 \pm 1.64\%$) and control group ($10,320.00 \pm 3,999.02 \text{ mm}^3$ and $1.65 \pm 2.05\%$ respectively). There were significant differences in serum concentrations of C-reactive protein (mg / dL) in sepsis group (19.57 ± 41.69 mg / dL) compared to the group not sepsis (10.29 ± 12.02 mg / dL) and group control (3.60 ± 3.53 mg / dL). In the evaluation of serum

lactate concentration, there was significant difference between dogs with pyometra and healthy dogs, but there was no significant difference between the groups sepsis and no sepsis. The results of this study indicate that troponin I could not be considered an early biomarker of myocardial injury in cases of dog with pyometra, because the results of the measurements were similar between groups, inferring that may not have occurred injury of cardiomyocytes at this stage. C-reactive protein and lactate are potential markers for systemic inflammation, as demonstrated significantly higher serum concentrations in dogs with pyometra.

Key-words: sepsis, dogs, biomarker

INTRODUÇÃO

Sepse é definida como a resposta inflamatória sistêmica desencadeada por uma infecção bacteriana, viral, fúngica ou presença de protozoários associada a sinais de repercussão sistêmica (RABELO, 2012), já a disfunção orgânica é conhecida como sepse grave (ABRAHAM *et al.*, 2000).

Os efeitos da sepse sobre o sistema cardiovascular podem ser predominantes, ocorrendo desta forma quadro clínico característico de depressão miocárdica, uma das principais causas de morte em cadelas com piometra (MARETTA *et al.*, 1989).

Devido aos efeitos sistêmicos potencialmente letais induzidos pela doença, a utilização de marcadores prognósticos de morbidade, mortalidade e identificação da sepse apresenta grande demanda na medicina veterinária (HAGMAN, 2014).

A troponina I é uma proteína encontrada em fibras musculares esqueléticas e cardíacas que são responsáveis pela contração muscular. (HAMACHER *et al.*, 2015; SHEYIN *et al.*, 2015; TIRUVOIPATI *et al.*, 2012). A troponina I cardíaca é encontrada apenas no coração sendo expressa exclusivamente pelo miocárdio e está especialmente associada às miofibrilas, embora pequenas quantidades estejam presentes também no citosol (DUNN *et al.*, 2008). Normalmente não são detectáveis na circulação por estarem presentes em pequenas quantidades. No entanto quando há um dano à célula do miocárdio, a troponina é liberada na circulação e pode ser mensurada por meio de métodos de imunoensaio (HAMACHER *et al.*, 2015; SHEYIN *et al.*, 2015; TIRUVOIPATI *et al.*, 2012).

Sua elevação em pacientes sépticos é comum, porém seu papel para prognosticar o paciente em sepse ainda é bastante debatido (TIRUVOIPATI *et al.*, 2012). Portanto, a avaliação de marcadores cardíacos como a troponina I cardíaca, quantificação de determinados marcadores prognósticos como as proteínas de fase aguda, dentre elas, a proteína C reativa e marcadores de hipóxia tecidual como o lactato sérico podem ser utilizados para identificar e prognosticar o paciente séptico ou com SRIS (KRINSHNAGOPALAN *et al.*, 2002; STEVENSON *et al.*, 2007).

No presente estudo objetivou-se avaliar a troponina I cardíaca como marcador de lesão cardíaca, além de outros parâmetros hematológicos em cadelas com piometra.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Instituição, sob o protocolo nº 034/11.

Foi realizado um estudo prospectivo entre Dezembro de 2013 e Abril de 2015. Inicialmente foram selecionadas cadelas oriundas da rotina do Hospital Universitário da instituição diagnosticadas com piometra e avaliadas independente da idade, peso ou raça. Foram separadas em dois grupos (seps e não seps). O diagnóstico de piometra foi realizado com base em sinais clínicos, histórico, achados ultrassonográficos, parâmetros hematológicos e bioquímicos. A confirmação procedeu-se posteriormente durante o procedimento cirúrgico por meio da realização de análise citológica para confirmação de exsudato séptico. Após o diagnóstico, foram coletadas amostras para realização das análises laboratoriais, realização de eletrocardiograma utilizando aparelho ECG PC VET versão 6.2 – 2011 (TEB[®]–Brasil), ecocardiograma por meio do aparelho My Lab 40 (Esaote[®] - Itália) e mensuração da pressão arterial sistólica utilizando aparelho Doppler Vascular Modelo 811B (Parks Medical Electronics[®]–EUA). Os proprietários foram informados de todo o processo, sendo solicitada a assinatura de um formulário de consentimento que autorizava a realização dos procedimentos e exames. As pacientes foram avaliadas para a presença de seps após o exame físico e resultado do hemograma. O diagnóstico de seps foi confirmado se a paciente apresentasse pelo menos 2 critérios estabelecidos de acordo com HAUPTMAN et al. (2007): Hipo ou hipertermia ($<38,1^{\circ}\text{C}$ ou $> 39,2^{\circ}\text{C}$), taquicardia (>120 bpm), taquipnéia (>20 mrpm), leucopenia ou leucocitose ($<4 \times 10^3$ ou $>16 \times 10^3$) e neutrófilos jovens $> 3\%$.

As cadelas que apresentaram alguma doença cardíaca assim como aquelas tratadas recentemente com medicações cardioprotetoras, doenças concomitantes ou avaliação do conteúdo uterino não compatível com piometra foram excluídas do estudo. Dez cadelas saudáveis oriundas da rotina do Hospital Veterinário da instituição submetidas à cirurgia de OSH eletiva foram incluídas como grupo controle.

Para avaliação das variáveis hematológicas, os seguintes parâmetros foram analisados: hemácias, hemoglobina, volume globular (VG), volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), leucócitos totais e plaquetas. Realizou-se contagem automática por meio do aparelho IDEXX VetAutoread. As contagens diferenciais de leucócitos, contagem global de eritrócitos e a análise morfológica foram avaliadas pelo esfregaço sanguíneo. Para análise do perfil bioquímico, foram determinadas as concentrações séricas de albumina (método verde de bromocresol), globulina (diferença entre proteína total e albumina), creatinina (método picrato alcalino), uréia (método cinético UV), fosfatase alcalina – FAL (método cinético otimizado), proteínas totais – PT (método biureto), aspartato aminotransferase – AST e alanina aminotransferase ALT (método cinético UV-IFCC). Utilizou-se kits específicos da marca Intertec-Katal para estas análises. Para avaliação da glicemia sanguínea foi utilizado o aparelho Accu-Check Active (Roche®).

As amostras de sangue para mensuração da troponina I foram coletadas no dia 1 (consulta) e no dia 10 (retorno) e foram analisadas utilizando o Kit Antibody-Protein (Troponina canina 1 (TN1) Kit ELISA, Mybiosource®).

A mensuração da proteína C reativa foi realizada pelo método aglutinação de partículas de látex por meio do Kit Bio Látex semi quantitativo – Bioclin[®] (igual ou superior a 6mg/L). Para o lactato utilizou-se o aparelho Accutrend Lactato (Roche[®]).

Para a análise estatística foi utilizado um delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial 3×2 (três grupos, sendo animais controle, animais com piometra sepse e animais com piometra não sepse e dois momentos de avaliação, sendo no momento da consulta e no retorno – 10 dias após a consulta). Os blocos foram constituídos pelos animais e os tratamentos pelos três grupos experimentais. Cada parcela experimental (unidade experimental) foi representada por um cão. Os dados são apresentados como média \pm desvio-padrão (DP). Após o teste de normalidade dos resíduos (Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade das variâncias (Levene), a análise de variância (ANOVA) dos dados de avaliação clínica e laboratorial foi realizada. Quando significativos a ANOVA, os dados nos dois momentos de avaliação em cada um dos grupos experimentais foram submetidos ao teste F. Para a comparação dos dados de avaliação clínica e laboratorial nos três grupos experimentais em cada momento de avaliação foi utilizado o teste Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Toda análise estatística foi realizada utilizando o pacote estatístico IBM[®] SPSS[®] for Windows versão 20.0 (IBM[®] SPSS[®], 2011).

RESULTADOS

Quarenta animais foram inicialmente selecionados por se enquadrarem nos critérios de inclusão para o grupo sepse e não sepse.

Destes, vinte e um animais foram excluídos. Dez animais apresentavam doença cardíaca primária, cinco apresentavam doenças concomitantes (hemoparasitoses, neoplasia mamária), um apresentava politraumatismo, três não compareceram ao retorno no dia estabelecido e três não foram confirmados piometra durante o procedimento cirúrgico. Assim, o estudo em questão foi composto por 19 animais divididos em dois grupos: piometra sepse e piometra não sepse. O grupo sepse foi constituído por 12 cadelas (63%) com idade média de $82,00 \pm 41,52$ meses (24 – 132 meses) e peso médio de $12,75 \pm 9,47$ Kg (3 – 33Kg), enquanto que o grupo não sepse foi constituído por 7 cadelas (37%) com idade média de $89,14 \pm 52,24$ meses (36 - 168 meses) e peso médio de $18,43 \pm 17,29$ Kg (3 – 41Kg). O grupo controle foi composto por 10 cadelas saudáveis com média de idade de $27,00 \pm 25,50$ (12 – 96 meses) e peso médio de $13,00 \pm 8,64$ kg (6 -29 Kg).

Não houve diferença estatística entre os grupos avaliados com relação ao peso, porém para a variável idade dos animais (meses), observou-se que os animais do grupo controle apresentaram uma idade inferior ($P < 0,01$) aos animais do grupo sepse e não sepse sendo que nesses dois últimos a idade não diferiu ($P > 0,05$) entre eles. As raças mais comuns nos grupos piometra foram sem raça definida (SRD) (n=6), Pinscher (n=3), Labrador (n=2), Poodle (n=2), Teckel (n=2), Fila Brasileiro (n=1), Fox Paulistinha (n=1), Pastor Alemão (n=1), Pointer Alemão (n=1). Enquanto que no grupo controle, as raças mais comuns foram SRD (n=7), Labrador (n=1), Teckel (n=1) e Schnauzer (n=1). Dos 12 animais do grupo sepse o mesmo número de animais (4) apresentaram 5, 4 e 3 critérios para SRIS respectivamente.

Com relação às variáveis hematológicas, houve diferença estatística significativa na contagem de leucócitos totais entre os três grupos avaliados no momento da consulta. O grupo sepse apresentou contagem de leucócitos totais significativamente mais elevada se comparado ao grupo controle e ao grupo não sepse, sendo que o grupo controle apresentou contagem de leucócitos totais inferior ao grupo não sepse (Tab. 1).

Com relação à porcentagem de bastonetes, houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados no momento da consulta, sendo que o grupo sepse apresentou valores superiores ao grupo controle e ao grupo não sepse. Não houve diferença estatística entre estes dois grupos. Ainda com relação à porcentagem de bastonetes, o grupo sepse apresentou diferença estatística significativa na consulta se comparada ao retorno, com porcentagens superiores nesse momento da avaliação (Tab. 2). Dos 12 cães do grupo sepse, 9 apresentaram valores de leucócitos superiores ao intervalo de referência e apenas 1 cão apresentou valor inferior. Já com relação aos valores de bastonetes, 8 cães apresentaram valores superiores ao intervalo de referência. Não houve diferença significativa no número de hemácias, saturação de hemoglobina e quantidade de plaquetas entre os grupos, estando todos os valores dentro do intervalo de referência.

Tabela 1. Média \pm desvio padrão (DP) da variável hematológica: leucócitos totais (mm^3), de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 de pós operatório).

Grupo avaliado (G)	Momento da avaliação (M)		Média	Valor de P		
	Consulta	Retorno		G	M	G \times M
Controle	9.620,00 \pm 2.427,77 C	11.020,00 \pm 5.062,40 B	10.320,00 \pm 3.999,02 C	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	Sepse	32.491,67 \pm 17.804,24 aA	13.109,09 \pm 7.376,03 bAB			
Não Sepse		14.928,57 \pm 7.085,49 B	14.057,14 \pm 6.706,61 A	14.492,86 \pm 6.828,26 B		
	Média	20.365,52 \pm 15.865,72 a	12.600,00 \pm 6.504,68 b			

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

^{A,B,C}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 2. Média \pm desvio padrão (DP) da variável hematológica: neutrófilos jovens (bastonetes) (%), de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 pós operatório).

Grupo avaliado (G)	Momento da avaliação (M)		Média	Valor de P		
	Consulta	Retorno		G	M	G \times M
Controle	2,00 \pm 2,57 B	1,30 \pm 1,29	1,65 \pm 2,05 B	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Sepse	9,33 \pm 13,23 aA	2,18 \pm 1,04 b	5,91 \pm 10,18 A			
Não Sepse	2,00 \pm 2,12 B	1,86 \pm 1,01	1,93 \pm 1,64 B			
Média	5,03 \pm 9,37 a	1,79 \pm 1,18 b				

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

^{A,B}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Com relação às variáveis bioquímicas, houve diferença estatística significativa na concentração sérica da FA entre os três grupos avaliados e entre os momentos de avaliação. O grupo sepse apresentou elevações mais significativas ($347,72 \pm 300,18$ U/L) comparadas ao grupo não sepse e ao grupo controle respectivamente ($174,71 \pm 150,93$ e $110,32 \pm 41,25$). Dos 12 animais grupo sepse, 10 apresentaram valores da FA superiores ao intervalo de referência. Não houve diferença estatística significativa nas concentrações séricas da PT, albumina, globulina, ALT, AST, uréia e

creatinina entre os grupos, porém os grupos SRIS+ e SRIS- apresentaram valores de uréia e creatinina superiores ao intervalo de referência.

Não houve diferença estatística significativa na concentração da troponina I cardíaca entre os três grupos avaliados e entre os momentos de avaliação (Tab.3).

Tabela 3. Média \pm desvio padrão (DP) da troponina I (ng/ml) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (10 dias de pós operatório).

Grupo avaliado (G)	Momento da avaliação (M)		Média	Valor de P		
	Consulta	Retorno		G	M	G \times M
Controle	0,056 \pm 0,012	0,056 \pm 0,012	0,056 \pm 0,012	0,711	0,937	0,877
Sepse	0,056 \pm 0,010	0,057 \pm 0,017	0,056 \pm 0,014			
Não Sepse	0,055 \pm 0,007	0,053 \pm 0,011	0,054 \pm 0,009			
Média	0,056 \pm 0,010	0,056 \pm 0,014				

Com relação à mensuração da PCr, houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados. O grupo sepse apresentou elevações estatisticamente significativas quando comparado ao grupo não sepse e ao grupo controle (Tab.4).

Tabela 4. Média \pm desvio padrão (DP) da Proteína C reativa (PCr) (mg/dl) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (dia 10 de pós operatório).

Grupo avaliado (G)	Momento da avaliação (M)		Média	Valor de P		
	Consulta	Retorno		G	M	G \times M
Controle	4,20 \pm 3,91	3,00 \pm 3,05	3,60 \pm 3,53 C	< 0,01	0,986	0,217
Sepse	15,00 \pm 25,52	25,55 \pm 54,15	19,57 \pm 41,69 A			
Não Sepse	14,57 \pm 15,71	6,00 \pm 3,29	10,29 \pm 12,02 B			
Média	11,17 \pm 18,80	12,21 \pm 35,18				

^{A,B,C}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (P < 0,05).

Com relação às mensurações do Lactato sérico entre os grupos, houve diferença estatística significativa entre os três grupos avaliados e entre os momentos de avaliação (Tab.5). Os grupos sepse e não sepse apresentaram resultados superiores se comparados ao grupo controle. Dos 12 animais do grupo sepse, 10 animais apresentavam concentração sérica acima dos intervalos de referência.

Tabela 5. Média \pm desvio padrão (DP) do Lactato sérico (mmol/L) de cadelas com piometra grupo sepse e não sepse, e cadelas do grupo controle no dia da consulta (dia 1) e no retorno (10 dias de pós operatório).

Grupo avaliado (G)	Momento da avaliação (M)		Média	Valor de P		
	Consulta	Retorno		G	M	G \times M
Controle	2,82 \pm 0,79	2,87 \pm 0,63	2,85 \pm 0,71 B	< 0,01	< 0,01	0,132
Sepse	4,09 \pm 1,49	4,82 \pm 1,89	4,44 \pm 1,72 A			
Não Sepse	3,57 \pm 1,41	4,70 \pm 1,57	4,14 \pm 1,58 A			
Média	3,53 \pm 1,37 b	4,09 \pm 1,72 a				

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha diferem entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

^{A,B}Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Todas as cadelas com piometra deste estudo foram adequadamente diagnosticadas e se enquadraram na classificação de sepse proposto por Hauptman et al. (2007). O coração é um dos órgãos mais afetados pela resposta que ocorre na sepse ou choque séptico em cadelas com piometra (MARETTA et al., 1989), podendo acarretar depressão miocárdica. Como a troponina I é uma proteína encontrada apenas no coração e é expressa unicamente pelas células do miocárdio (DUNN et al., 2011), hipotetizou-se neste trabalho que esta proteína poderia ser um biomarcador precoce de dano ao miocárdio.

Quando ocorre um dano à célula do miocárdio, a troponina é liberada na circulação e pode ser mensurada por meio de métodos de imunoensaio (HAMACHER et al., 2015; SHEYIN et al., 2015; TIRUVOIPATI et al., 2012). No atual estudo as concentrações séricas da troponina I cardíaca não demonstraram diferença estatística significativa entre os grupos controle e grupo piometra sepse ou não sepse, diferindo de Pelaner et al. (2008), em que houve diferença significativa na concentração da troponina I em cadelas com piometra se comparadas ao grupo controle. Hamacher et al. (2014) e Langhorn et al. (2014) em estudos realizados em cães com SRIS, também demonstraram diferença estatística nas concentrações séricas da troponina I, revelando aumento significativamente maior no grupo não sobrevivente quando comparado ao grupo sobrevivente.

Porém, no trabalho de Takasu et al. (2013) realizado com o intuito de avaliar o grau de morte dos cardiomiócitos na sepse, não foram observadas evidências de lesão aguda irreversível ou morte celular em amostras cardíacas de pacientes sépticos. A microscopia eletrônica revelou incidência de lesão focal na membrana das mitocôndrias dos cardiomiócitos no grupo controle e em pacientes sépticos.

Com base nestes achados de Takasu et al. (2013) pode-se justificar os achados do trabalho em questão e inferir que a sepse não induz a morte celular significativa dos cardiomiócitos, mas sim a alterações consistentes de lesão mitocondrial, concluindo que a morte celular é uma condição pouco comum na disfunção cardíaca induzida pela sepse, mesmo com lesão mitocondrial.

No presente estudo, não houve elevação da concentração da troponina I possivelmente por não ter ocorrido injúria miocárdica ao ponto de causar a morte celular, ou outra possibilidade seria a de que nos pacientes desse estudo, embora tenham atendido aos critérios de sepse, estes não entraram em choque séptico, quadro este que possivelmente poderia causar danos maiores às células cardíacas.

Desta forma, podemos inferir que a troponina pode não ser considerada um biomarcador precoce de depressão miocárdica, pois apresenta valores aumentados apenas quando há lesão dos cardiomiócitos. Segundo Maretta et al. (1989), a depressão miocárdica é uma das principais causas de morte em cadelas com piometra, mas podemos concluir que esta depressão não ocorre por morte de cardiomiócitos, inferindo que outros mecanismos, como por exemplo, a deformação cardíaca possa ser o mecanismo de disfunção cardíaca.

Em relação aos parâmetros hematológicos e bioquímicos, nesse estudo observaram-se consideráveis alterações nas cadelas com piometra se comparadas aos animais do grupo controle. As alterações significativas ($P < 0,05$) foram observadas nos valores da contagem total de leucócitos, porcentagem de neutrófilos jovens (bastonetes) e da enzima fosfatase alcalina. Segundo Fransson et al. (2004) e Jitpean et al. (2014), utilizando cadelas com piometra, também foram encontradas alterações marcantes no perfil hematológico e bioquímico, o que se leva a concluir que são achados esperados nesta doença.

A presença de leucocitose com neutrofilia e desvio à esquerda, um dos parâmetros que mais demonstraram alterações no estudo em questão e em estudos semelhantes, pode ser explicada como uma estimulação que

ocorre na medula óssea devido ao processo inflamatório, resposta ao estresse e resposta de fase aguda (PATIL et al., 2013).

Condições inflamatórias sistêmicas envolvem liberação acentuada de citocinas (KARLSSON et al., 2013). No presente estudo as concentrações séricas da PCr demonstraram alterações significativas entre os três grupos avaliados. O grupo controle apresentou concentração sérica inferior quando comparado aos grupos piometra. Segundo Clyne e Olshker (1999), a PCr é uma proteína de fase aguda e já está bem estabelecido que a sua elevação na circulação é fortemente associada a condições inflamatórias em humanos e em cães, no entanto, foi demonstrado que a PCr apresenta capacidade limitada para diferenciar quadros sépticos de outras condições inflamatórias em humanos.

Ishida et al. (2011) em um estudo semelhante com cães apresentando SRIS de origem infecciosa e não infecciosa, as concentrações séricas da PCr mostraram-se elevadas. Isso reflete que a PCr pode ser considerada um marcador sensível para SRIS porém não é necessariamente específica para sepse devido sua concentração também estar elevada em condições inflamatórias de outras etiologias (JITPEAN et al., 2014).

No presente estudo, a elevação nos níveis de lactato previamente definidos como $> 2,5$ mmol/L por McMichael et al. (2005), esteve presente em dezessete das dezenove cadelas com piometra (11/12 grupo sepse e 5/7 grupo não sepse), indicando diminuição da perfusão tecidual. Ainda segundo McMichael et al. (2005), a hipóxia tecidual pode ser originada por várias causas, como hipoperfusão, anemia ou edema tecidual. Condições de hipovolemia, mau funcionamento hepático com

diminuição da absorção de lactato podem induzir hiperlactatemia e consequente acidose láctica. A acidose láctica pode estar presente em quadro de sepse onde há aumento na produção do lactato a partir do baço ou outros órgãos. Estes dados explicam os achados das cadelas com piometra no trabalho em questão.

O presente estudo apresenta algumas limitações, a primeira delas refere-se ao número limitado de animais incluídos. Alguns animais tiveram que ser excluídos devido à falta de colaboração de alguns proprietários em não comparecerem ao retorno no dia estabelecido, alguns foram excluídos por apresentarem doença cardíaca primária ou doenças concomitantes. Outra limitação refere-se ao estado clínico e a variação individual dos pacientes inclusos. Para minimizar essa variação individual, foram utilizados os critérios para sepse. No entanto esses critérios são inespecíficos, uma vez que animais excitados ou estressados podem satisfazer mais de um desses critérios.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que a troponina I não pode ser considerada um biomarcador precoce para injúria miocárdica nos casos de cadelas com sepse secundária a piometra, pois os resultados das mensurações foram semelhantes entre os grupos, inferindo que pode não haver lesão dos cardiomiócitos nesta fase. Já a proteína C reativa e o lactato são possíveis marcadores para inflamação sistêmica, uma vez que demonstraram concentrações séricas significativamente maiores em cadelas com piometra.

AGRADECIMENTOS: À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento concedido.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, E.; MATTHAY, M.A.; DINARELLO, C.A. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. **Critical Care Medicine**, v.28, p.232-235, 2000.

CLYNE, B.; OLSHKER, J.S. The C reative protein. **The Journal of Emergency Medicine**, v.17, p. 1019-1025, 1999.

DUNN, M.E.; COLUCCIO, D.; HIRKALER, G.; et al. The complete pharmacokinetic profile of sérum cardiac troponin I in the rat and the dog. **Toxicological Sciences**, v. 132, n.2, p.368-373, 2011.

FRANSSON, B.A.; KARLSTAM, E.; BERGSTROM, A.; et al. C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. **Journal of Americam Animal Hospital Association**, v.40, p. 391-399, 2004.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B.J.; LEDIN, H.B.; et al. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 51, n. 2, p. 1-9, 2009.

HAGMAN. R. Diagnostic and prognostic markers for uterine diseases in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, p.16-20, 2014.

HAMACHER, L.; DCORFELT, R.; MULLER, M.; et al. Serum Cardiac Troponin I Concentrations in Dogs with Systemic Inflammatory

Response Syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, p. 164-170, 2015.

HAUPTMAN, J.; WALSHAW, R.; OLIVIER, N. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**, v.26, p. 393-397, 1997.

IBM® Corp. Released. SPSS® Statistics for Windows. Version 20.0, Release 0.0.0. Armonk, New York: IBM Corp., 2011.

ISHIDA, A.; OHNO, K.; FUKUSHIMA, K.; et al. Plasma high-mobility group box 1 (HMGB1) in dogs with various diseases: comparison with C-reactive protein. **The Journal of Veterinary Medicine Science**, v. 73, p. 1127-1132, 2011.

JITPEAN, S.; HOLST, B.S.; HÖGLUND, O.V.; et al. Serum insulin-like growth factor-I, iron, C-reactive protein, and serum amyloid A for prediction of outcome in dogs with pyometra. **Theriogenology**, v. 82, p. 43-48, 2014.

KARLSSON, I.; WERNERSSON, S.; AMBROSEN, A.; et al. Increased concentrations of C-reactive protein but not high-mobility group box 1 in dogs with naturally occurring sepsis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.156, p. 64-72, 2013.

KRINSHNAGOPALAN, S.; KUMAR, A.; PARRILO, L.E. Myocardial dysfunction in the patient with sepsis. **Current Opinion in Critical Care**, v. 8, p. 376-388, 2002.

LANGHORN, R.; THAWLEY, V.; OYAMA, M.A.; et al. Prediction of Long-Term Outcome by Measurement of Serum Concentration of Cardiac Troponins in Critically Ill Dogs with Systemic inflammation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, p. 1492-1497, 2014.

MARETTA, S.M.; MATTHIESEN, D.T.; NICHOLS, R. Pyometra and its complications. **Problem in Veterinary Medicine**, v.1, p.50-62, 1989.

MCMICHAEL, M.; LEES, G.; HENNESEY, J.; et al. Serial plasma lactate concentration in 68 puppies aged 4 to 80 days. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, p. 17-21, 2005.

PATIL, A.R.; SWAMY, M.; CHANDRA, A.; et al. Clinico-haematological and serum biochemical alterations in pyometra affected bitches. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n.13, p. 1564-1570, 2013.

PELANER, L.; HAGMAN, R.; HÄGGSTROM, J. Concentrations of cardiac Troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 50, p. 1-8, 2008.

RABELO, R.C. Sepsis, sepse grave e choque séptico. In: RABELO, R.C. **Emergências de pequenos animais: condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p. 322-340.

SHEYIN, O.; DAVIES, O.; DUAN, W.; et al. The prognostic significance of troponin in patients with sepsis: A meta – analysis. **Heart & Lung**, v.44, p. 75-81, 2015.

STEVENSON, C.K.; KIDNEY, B.A.; DUKE, T.; et al. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, p.234-239, 2007.

TAKASU, O.; GAUT, J.P.; WATANABE E.; et al. Mechanisms of Cardiac and Renal Dysfunction in Patients Dying of Sepsis. **American Journal of Respiratory Critical and Care Medicine**, v. 187, p. 509-517, 2013.

TIRUVOIPATI, R.; SULTANA, N.; LEWIS, D. Cardiac troponin I does not independently predict mortality in critically ill patients with severe sepsis. **Emergency Medicine Australasia**, v. 24, p. 151-158, 2012.

(VERSÃO PRELIMINAR)