

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**AVALIAÇÃO DA SORO AMILÓIDE A (SAA) EM FELINOS COM
ALTERAÇÕES LEUCOCITÁRIAS**

AMANDA AVELAR PARREIRA

Botucatu, São Paulo

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**AVALIAÇÃO DA SORO AMILÓIDE A (SAA) EM FELINOS COM
ALTERAÇÕES LEUCOCITÁRIAS**

AMANDA AVELAR PARREIRA

Manuscrito de dissertação apresentado junto ao
Programa de Pós-graduação em Medicina
Veterinária para obtenção do título de mestre.
Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Botucatu, São Paulo

2025

P259a

Parreira, Amanda

AVALIAÇÃO DA SORO AMILÓIDE A (SAA) EM FELINOS
COM ALTERAÇÕES LEUCOCITÁRIAS / Amanda Parreira. --

Botucatu, 2025

63 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Paulo Fernandes Marcusso

Coorientador: Fabíola de Oliveira Paes Leme

1. Inflamação. 2. Felinos. 3. Leucócitos. 4. Proteínas. 5.
Hematologia. I. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

AMANDA AVELAR PARREIRA

20/02/2025

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira

Departamento de Medicina Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Prof. Dr. Gustavo da Silva Claudiano

Departamento de Ciência Animal

Universidade Federal do Oeste do Pará, Castanhal, Pará, Brasil

Botucatu, São Paulo

2025

Agradecimentos

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001".

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001".



RESUMO

As proteínas de fase aguda (APPs) são produzidas no fígado em resposta a citocinas pró-inflamatórias. O uso dessas proteínas para fins diagnósticos em animais aumentou na última década. Quando ocorre lesão tecidual, uma resposta inflamatória de fase aguda é gerada, resultando em alterações nas concentrações de proteínas totais e APPs. Algumas dessas proteínas diminuem, como as proteínas APP-negativas (albumina e transferrina), e outras aumentam, como as proteínas APP-positivas (SAA, PCR, haptoglobina, AGP, ceruloplasmina e fibrinogênio). A SAA aumenta entre 24 e 48 horas após a estimulação e permanece elevada durante a inflamação, sendo um importante marcador prognóstico. O estudo, aprovado pela CEUA da UNESP, envolveu 79 gatos atendidos no Hospital Veterinário da mesma universidade. Os animais foram divididos em quatro grupos: G1 (controle), com 30 gatos sem sinais clínicos de doença ou inflamação; G2 (leucocitose de estresse), com 9 gatos com leucocitose sem evidência de doença; G3 (leucocitose inflamatória), com 15 gatos com leucocitose e sinais clínicos de inflamação; e G4 (leucopenia), com 26 gatos com leucopenia e sem sinais clínicos de doença. A SAA foi capaz de diferenciar leucocitose por estresse de leucocitoses inflamatórias, sendo que os pacientes do G3 apresentaram SAA média elevada. Alguns animais do G1 apresentaram SAA elevada, indicando o início de um processo inflamatório ainda não identificado no hemograma. Além do aumento da SAA, os pacientes do G3 apresentaram menores níveis de hemácias, hemoglobina e hematócrito, provavelmente devido à inflamação, que afeta o metabolismo do ferro e a produção de hemácias. A avaliação da SAA revelou diferenças nas globulinas, tanto no geral quanto entre os grupos. A SAA se mostrou eficaz para identificar processos inflamatórios em curso e provavelmente início de inflamação em animais sem alterações leucocitárias significativas, destacando sua especificidade e precocidade no diagnóstico de distúrbios inflamatórios em gatos.

Palavras-chave: inflamação, gatos, bioquímica sérica, hematologia, proteínas

ABSTRACT

Acute phase proteins (APPs) are produced in the liver in response to proinflammatory cytokines. The use of these proteins for diagnostic purposes in animals has increased in the last decade. When tissue injury occurs, an acute phase inflammatory response is generated, what results in changes in the concentrations of total proteins and APPs. Some of these proteins decrease, such as APP-negative proteins (albumin and transferrin), and others increase, such as APP-positive proteins (SAA, CRP, haptoglobin, AGP, ceruloplasmin and fibrinogen). SAA increases between 24 and 48 hours after stimulation and remains elevated during inflammation, being an important prognostic marker. The study, approved by the CEUA of UNESP, involved 79 cats treated at the Veterinary Hospital of the same university. The animals were divided into four groups: G1 (control), with 30 cats without clinical signs of disease or inflammation; G2 (stress leukocytosis), with 9 cats with leukocytosis without evidence of disease; G3 (inflammatory leukocytosis), with 15 cats with leukocytosis and clinical signs of severe inflammation; and G4 (leukopenia), with 26 cats with leukopenia and no clinical signs of disease. SAA was able to differentiate stress leukocytosis from inflammatory leukocytosis, with patients in G3 having a high mean SAA. Some animals in G1 had high SAA, below the onset of an inflammatory process not yet identified in the blood count. In addition to the increase in AAG, patients in G3 had lower levels of red blood cells, hemoglobin and hematocrit, probably due to inflammation, which affects iron metabolism and red blood cell production. The SAA assessment revealed differences in globulins, both overall and between groups. SAA exposed evidence to identify ongoing inflammatory processes and probably the onset of inflammation in animals without severe leukocyte alterations, highlighting its specificity and precocity in the diagnosis of inflammatory disorders in cats.

Keywords: inflammation, cats, serum biochemistry, hematology, proteins

Lista de figuras

- Figura 1:** Comparação da leucometria total entre os grupos de gatos avaliados (leucometria normal, leucocitose inflamatória, por estresse ou leucopenia).....21
- Figura 2:** Apresentação gráfica de SAA analisada em gatos com diferentes classificações da leucometria. 32
- Figura 3:** Prancha de boxplots apresentando os principais analitos que demonstraram diferença estatística na hematologia entre os grupos de gatos separados quanto a interpretação da leucometria..... 34
- Figura 4:** Apresentação gráfica das proteínas totais e frações e da SAA analisadas em gatos com diferentes classificações da leucometria..... 38
- Figura 5:** Atividades séricas (UI/L) de gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) de gatos com diferentes interpretações da leucometria. 39

Lista de tabelas

Tabela 1: Média e desvio padrão dos resultados de hemograma e bioquímica dos ... 29

Lista de abreviações

APPs: Proteínas de fase aguda
APR: Resposta de fase aguda
SAA: Soro Amiloide A
Hp: Haptoglobina
AGP: Alfa-1-glicoproteína ácida
Cp: Ceruloplasmina
EPO: Eritropoietina
ROS: Espécies reativas de oxigênio
NETs: Armadilhas extracelulares de neutrófilos
ERK: Quinases reguladas por sinais extracelulares
Akt: Proteína quinase B
ACTH: Hormônio adrenocorticotrófico
IL-1: Interleucina 1
IL-11: Interleucina 11
IL-6: Interleucina 6
IL-8: Interleucina-8
IL-4: Interleucina 4
IL-13: Interleucina 13
IL-18: Interleucina 18
INF- γ : Interferon- γ
Ig: Imunoglobulina
PRRs: Receptores de reconhecimento de padrões
TLRs: Receptores *toll-like*
PAMPs: Padrões moleculares associados a patógenos
DAMPs: Sinais de danos
TGF- β : Fator transformador de crescimento beta
SPMs: mediadores pró-resolução

IL-1 β : Interleucina-1 beta

IL-10: Interleucina-10

SIRS: Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa

SNA: Sistema nervoso autônomo

SNC: Sistema nervoso central

NEUT: Neutrófilos segmentados

ALT: Alanina aminotransferase

GGT: Gama glutamiltransferase

FA: Fosfatase alcalina

FIA: Imunoensaio Fluorescente

Sumário

CAPÍTULO 1	11
INTRODUÇÃO	12
Fisiopatologia da inflamação.....	14
Mediadores Inflamatórios.....	16
PROTEÍNAS DE FASE AGUDA.....	18
Soro amiloide A.....	19
Alterações leucocitárias	20
OBJETIVOS	21
Objetivo geral.....	21
Objetivos específicos	22
MATERIAL E MÉTODOS	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	23
CAPÍTULO 2	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	41
CAPÍTULO 3	51

CAPÍTULO

INTRODUÇÃO

As proteínas de fase aguda (APPs) são um grupo de proteínas cuja produção no fígado aumenta ou diminui em resposta à inflamação. Desempenham um papel importante na resposta imunológica, auxiliando na regulação da inflamação e na recuperação tecidual (Carretón et al., 2016). Exemplos comuns de APPs incluem a proteína C-reativa (PCR), o fibrinogênio e a alfa-1-antitripsina. São consideradas parte do sistema de defesa inato e sua quantificação fornece informações clínicas essenciais ao diagnóstico, monitoramento e prognóstico de doenças inflamatórias. As APPs são classificadas em dois grupos: APPs negativas, como a albumina, que diminuem em respostas a fase aguda e positivas, como a proteína C reativa, que aumentam e são utilizadas como marcadores em processos inflamatórios agudos. Devido à baixa especificidade, seu aumento pode ocorrer em situações, como infecções, doenças autoimunes, traumas e neoplasias. Sendo assim, é fundamental interpretá-las em consonância com as condições clínicas do paciente e associá-las a outros exames laboratoriais para um diagnóstico mais acurado (Hazuchova, Held e Neider, 2017).

As células envolvidas na resposta imune inata, que incluem principalmente os macrófagos e, em menor proporção, os neutrófilos, produzem e liberam citocinas pró-inflamatórias, em especial interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (Rossi, 2023). Elas exercem um importante papel na indução da síntese de APPs. A resposta de fase aguda é uma reação rápida e inespecífica, ocorrendo antes da resposta imune específica e suas manifestações variam entre espécies. Embora a resposta de fase aguda geralmente dure poucos dias, pode persistir em inflamações crônicas, contribuindo para danos teciduais e diversas complicações, incluindo a amiloidose (Cerón, Eckersall e Martínez-Subiela, 2005).

As citocinas atuam em diversos locais envolvidos na homeostase, como sistema nervoso autônomo (SNA), sistema nervoso central (SNC), e nas glândulas adrenais, visando instituir uma rápida e acentuada resposta do organismo frente a estímulos inflamatórios. Vale ressaltar também que elas agem de forma sinérgica, de maneira que o TNF- α ativa proteínas proteolíticas, que atuam nos músculos, fazendo

com que haja maior produção de aminoácidos, que serão disponibilizados ao fígado a fim de que haja o aumento da produção de proteínas. A IL-1 atua inibindo a síntese de APPs negativas e estimulando a síntese das positivas. Já a IL-6 favorece a liberação dessas proteínas para o sangue (Paltrinieri, 2007).

Proteína C-reativa (PCR), soro amiloide A sérica (SAA), alfa-1-glicoproteína ácida (AAGP), haptoglobina (Hp) e albumina são APPs mais comumente mensuradas e avaliadas nos processos inflamatórios agudos. A SAA, Hp e PCR apresentam concentrações normalmente abaixo de 1 g/mL em animais saudáveis e, após estímulo inflamatório, seus níveis podem aumentar até 1000 vezes, com pico entre 24 e 48 horas, diminuindo rapidamente após a recuperação (Takashi et al., 2013; Bazzano et al., 2022).

Nos felinos, assim como nos seres humanos, a SAA aumenta precocemente em processos inflamatórios e infecciosos, além de demais situações em que haja dano tecidual (Takashi et al., 2014). Observa-se que processos inflamatórios prolongados ou contínuos, associados ao aumento sérico de SAA ocasiona uma forma reativa de amiloidose, em que há deposição de fibrilas amiloides nos tecidos e órgãos. Algumas formas de amiloidose secundária podem ocorrer pela deposição de peptídeos derivados da SAA em tecidos e os leucócitos estão aparentemente envolvidos nesse processo (Badolato et al., 1994). Entretanto, embora a SAA associada esteja a processos inflamatórios agudos a deposição de substância amiloide está frequentemente associada a estímulos inflamatórios crônicos (Moccia et al., 2023).

Gatos com síndrome de resposta inflamatória sistêmica (SRIS) de origem infecciosa ou não, também apresentam concentrações de SAA elevadas e isso sugere o papel da SAA como marcador nesses processos, bem como seu potencial como biomarcador de sepse felina. Alterações tóxicas em neutrófilos associadas a hipoalbuminemia também são associados a uma maior gravidade nos casos de sepse. Em estudo retrospectivo, em que foram avaliados 175 gatos com diferentes doenças, incluindo neoplasias, constatou-se que os gatos com maiores concentrações de SAA, tiveram um menor tempo de sobrevida comparado aos com menores concentrações (Troia et al., 2017).

REVISÃO DE LITERATURA

Fisiopatologia da inflamação

A reação inflamatória atua na amplificação da resistência inata, bem como na recuperação tecidual, a fim de restaurar a homeostase. As manifestações sistêmicas da inflamação incluem febre, alterações nas contagens de leucócitos e respostas metabólicas, associadas ao aumento da produção de APPs, que podem atuar diretamente em mudanças na produção de albumina, metabolismo de ferro e alterações hormonais (Mantovani e Garlanda, 2023).

A inflamação aguda é caracterizada por cinco sinais: dor, calor, rubor, turgor e perda de função, que refletem a atividade de citocinas e células inflamatórias. Os neutrófilos são as primeiras células a agir no local acometido, em resposta a sinalizações citocínicas locais (quimiotaxia), com o objetivo de defesa e remoção de microrganismos e detritos celulares (Fishbein et al., 2021).

Resumidamente, quando microrganismos invadem o organismo e causam danos, os receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os receptores *toll-like* (TLRs), desempenham um importante papel. São expressos por células do sistema imune e reconhecem tanto padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) quanto sinais de danos (DAMPs). A resposta imune inata é rapidamente ativada, comunicando a lesão para as células, como neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, mastócitos, células NK, células linfoides e células dendríticas, bem como células não hematopoiéticas, como as epiteliais, que revestem os tratos gastrointestinal, geniturinário e respiratório (Zhang et al., 2023).

Essas células, por sua vez, produzem citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias que promovem a quimiotaxia, recrutando mais leucócitos e macrófagos para o local da inflamação, para que exerçam suas funções efetoras. Ademais, a presença de aminas vasoativas, como histamina e eicosanoides, como as prostaglandinas, regula positivamente a expressão de receptores do sistema complemento (como C3) e imunoglobulinas (Ig), aumentando a fagocitose e a capacidade de destruição celular. A inflamação e a lesão, não apenas ampliam em resposta imune, mas também

aumentam a permeabilidade vascular, permitindo que anticorpos e substâncias solúveis, como mediadores pró-resolução (SPMs), se movam para o centro da resposta inflamatória (Yang et al., 2021).

Os TLRs são fundamentais na imunidade inata ao viabilizarem a fagocitose de microrganismos, além de atrair leucócitos para órgãos acometidos através da regulação de moléculas de adesão e quimiocinas. Na imunidade adaptativa, estimulam células T e B após a exposição a adjuvantes. Promovem a ativação de células apresentadoras de antígenos, propiciam a produção de IL-12 para a diferenciação de células T auxiliares 1 (resposta Th1), além de promoverem a ativação e maturação das células B (Mokhtari et al, 2020).

Citocinas inflamatórias, como IL-1 e TNF de macrófagos e interferon-gama (INFY) de linfócitos, estimulam as células endoteliais para produção e expressão de proteínas de adesão (selectinas), que medeiam o rolamento e a migração de leucócitos. Mediadores químicos endógenos, como LTB4 (leucotrieno B4) e PAF (fator ativador de plaquetas), ativam neutrófilos e levam à expressão de integrinas de membrana de alta afinidade, que vão se ligar a receptores de células endoteliais, mediando o processo de diapedese (Stockham e Scott, 2008). Os mediadores lipídicos são sintetizados no local da lesão através de uma cascata complexa, enquanto os mediadores proteicos são liberados de estoques intracelulares. Esses mediadores são chamados de "mediadores da inflamação" (Maddipati, 2020).

O sistema complemento também atua na defesa do organismo e consiste em uma série de proteínas circulantes que podem ser ativadas em cascata na resposta à presença de microrganismos. Essa cascata de reações resulta na opsonização de patógenos e na lise celular por um complexo de ataque à membrana (MAC). Além disso, há a formação de anafilatoxinas pró-inflamatórias que auxiliam na remoção de complexos imunes e células danificadas, mediando a fagocitose. A via clássica do sistema complemento, chamada "dependente de anticorpos", envolve a ligação de proteína a anticorpos do tipo IgM e IgG, que se ligam a patógenos. A via da lectina é semelhante, mas não depende de imunoglobulinas, utilizando receptores como a lectina de ligação à manose (MBL) para reconhecer os PAMPs. A ativação do complemento resulta em três funções principais: lise celular direta, produção de anafilatoxinas pró-inflamatórias e opsonização de patógenos (Ostrycharz e Hukowska-Szematowicz, 2022).

Neutrófilos são células fundamentais na resposta imunológica inicial. São as células mais abundantes do sistema imune, produzidas continuamente na medula óssea e liberadas na corrente sanguínea. Eles podem migrar rapidamente para os órgãos em resposta a infecções ou inflamações, oferecendo uma resposta celular imediata. No entanto, sua vida útil nos tecidos é curta, de algumas horas até um ou dois dias. Embora sejam células ágeis, seu pequeno tamanho associado a ausência de mecanismos fagocíticos muito efetivos, só as permitem realizar pequenas fagocitoses, deixando os macrófagos, como os maiores responsáveis por esta atividade. Após esse período, passam por apoptose e são fagocitados por macrófagos, que secretam citocinas anti-inflamatórias, como o fator transformador de crescimento beta (TGF- β) e a interleucina-10 (IL-10). A função dessas citocinas é reduzir a atividade inflamatória, promovendo a resolução da inflamação e auxiliando na reparação dos tecidos afetados (Kumar, Aster e Abbas, 2017; Zhang et al., 2023). Uma resposta inflamatória acentuada pode resultar em cronicidade, prejudicando a homeostase e contribuindo para doenças como câncer, diabetes e doenças cardiovasculares (Liu et al., 2021).

Por fim, a resolução da inflamação é um processo ativo e de extrema importância para restaurar a homeostase nos tecidos e inclui a limitação da infiltração neutrofílica, modulação da secreção de quimiocinas e citocinas e indução da apoptose de neutrófilos. Os macrófagos atuam na fagocitose de células mortas, promovendo a limpeza do local. A polarização dos macrófagos também leva à produção de moléculas pró-resolução, que facilitam a recuperação do tecido. Após a exocitose, os macrófagos podem ser removidos do local por drenagem linfática, contribuindo para a diminuição da inflamação (Yang et al., 2021).

A inflamação, não apenas indica a presença de uma resposta imunológica ativa, mas também desempenha um papel essencial na restauração da homeostase e na promoção da cura. A compreensão dos mecanismos imunológicos subjacentes à inflamação é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes no tratamento de doenças inflamatórias, bem como para a predição do prognóstico.

Mediadores Inflamatórios

As citocinas são glicoproteínas de baixo peso molecular secretadas por leucócitos e outras células em resposta a estímulos inflamatórios. Elas desempenham

papel na comunicação celular e na regulação do sistema imunológico. Incluem interleucinas, quimiocinas e fator de necrose tumoral. Diversas células estão envolvidas na produção de citocinas, como macrófagos e linfócitos, que atuam ligando-se a receptores nas células-alvo, iniciando cascatas de sinalização, que alteram funções celulares e expressão gênica. Atuam na hematopoiese, cicatrização de feridas e na manutenção do equilíbrio imunológico, desempenhando também papel na imunomodulação, crescimento celular e reparo tecidual (Megha et al., 2021; Zhang, Li e Qiu, 2024).

A IL-6 é um potente indutor da síntese de APPs no fígado e atua reprogramando e reorientando as funções metabólicas, o que resulta na diminuição da produção de albumina e no aumento da produção das APPs (Mantovani e Garlanda, 2023).

Dependendo de sua função, as citocinas são pró-inflamatórias (como IL-1 β e TNF- α), ou anti-inflamatórias (como IL-10 e TGF- β). Algumas citocinas, como IL-6, podem atuar em consonância. O equilíbrio dinâmico entre essas citocinas é fundamental para a modulação da resposta imunológica e influencia na progressão de doenças imunomediadas e na recuperação das fases agudas.

As citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, IL-4, IL-6, IL-11, IL-13 e TGF- β agem inibindo a atividade excessiva das citocinas pró-inflamatórias. A IL-10, por exemplo, não apenas limita a produção de citocinas inflamatórias, mas também exerce efeitos anti-inflamatórios em eosinófilos, basófilos e mastócitos, sendo necessária no controle de condições alérgicas. Em situações de doença, a superprodução de citocinas anti-inflamatórias pode levar à supressão da resposta imune, aumentando a vulnerabilidade dos pacientes a infecções sistêmicas. Durante processos como sepse, a interação entre citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-6 e IL-10, pode ser particularmente complexa e o aumento, especialmente IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 e TNF- α , não só contribui para a fase aguda da sepse, mas também pode oferecer pistas valiosas para o diagnóstico e prognóstico dessa condição (Liu et al., 2021).

O fator de necrose tumoral (TNF) é expresso e secretado por macrófagos e fibroblastos e por células efetoras imunológicas, como células NK e células T e costuma ser induzido pela exposição a padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), visando alertar o sistema imunológico (Luecke et al., 2023).

Juntamente com a IL-1, o TNF pode induzir ao aumento na expressão de moléculas como E-selectina, P-selectina e ligantes para integrinas leucocitárias na superfície do endotélio, que são importantes para a adesão e migração de leucócitos do sangue para o tecido inflamado. Além disso, estimulam o endotélio a produzir outras citocinas (como IL-6, IL-8), quimiocinas (como MCP-1, MIP-1 α), eicosanoides (como prostaglandinas) e outros mediadores inflamatórios, que ajudam a amplificar e modular a resposta inflamatória local. O TNF também pode aumentar a resposta dos neutrófilos a outros estímulos, como endotoxinas bacterianas, incluindo aumento da migração e da atividade microbida dessas células, auxiliando na defesa contra infecções. Há também um estímulo a macrófagos para que estes aumentem sua atividade microbida (Kumar, Aster e Abbas, 2017).

A IL-1 ativa os fibroblastos, que desempenham um papel imprescindível na síntese de colágeno e na reparação tecidual, contribuindo para o processo de cicatrização após a resolução da inflamação. A interleucina-1 beta (IL-1 β) é frequentemente referida como um “pirógeno endógeno”. O aumento da temperatura corporal cria um ambiente menos favorável para a sobrevivência e multiplicação de microrganismos infecciosos e potencializa a atividade dos linfócitos. Além disso, auxilia na amplificação da proliferação de linfócitos B e T em resposta a antígenos, estimula a produção de neutrófilos e APPs, além do aumento da produção de enzimas proteolíticas e prostaglandinas (Boraschi, 2022).

Resumidamente, as citocinas são mensageiros químicos indispensáveis, que atuam em diversas funções celulares, incluindo crescimento, maturação, diferenciação e capacidade de resposta. Desde a embriogênese até a vida adulta, elas são necessárias, não apenas para a homeostase, mas também para a resposta a ameaças infecciosas e lesões.

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

As proteínas de fase aguda (APPs) são sintetizadas no fígado em resposta à ação de citocinas pró-inflamatórias. O uso dessas proteínas para fins diagnósticos em animais tem crescido consideravelmente na última década (Rossi et al., 2020). A resposta de fase aguda (APR) é um processo complexo sistêmico que envolve uma série de eventos destinados a minimizar danos aos tecidos e promover o processo de reparo. É caracterizada por um rápido aumento nas concentrações das APPs. Na

inflamação crônica, alguns aspectos da resposta de fase aguda podem apresentar continuidade, contribuindo para o dano tecidual subjacente (Bazzano et al., 2022; Rajabi et al., 2023).

As lesões teciduais induzem a uma resposta inflamatória de fase aguda que é caracterizada por vários efeitos sistêmicos distintos, incluindo alterações nas concentrações de proteínas totais e APPs, sendo que algumas sofrem diminuição da concentração (APPs negativas; albumina ou transferrina) e outras sofrem aumento (APPs positivas; soro amiloide A (SAA), proteína C reativa (PCR), haptoglobina (Hp), alfa-1-glicoproteína ácida (AGP), ceruloplasmina (Cp) e fibrinogênio. A produção e resposta das APPs são variáveis entre as diferentes espécies animais. Por exemplo, em cães há uma maior resposta da PCR. A produção dessas proteínas geralmente é desencadeada por citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL)-6, IL-1 e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (Rajabi et al., 2023).

Em gatos, o aumento das proteínas de fase aguda está associado a doenças infecciosas, neoplasias e outras condições sistêmicas (Liu et al, 2020). Nessa espécie, a SAA é considerada a principal APP positiva. Durante a inflamação, a SAA pode aumentar de 10 a 50 vezes sua concentração normal 24 a 48 horas após a exposição a um estímulo patogênico, e os níveis permanecem elevados durante a inflamação. Por outro lado, a alfa-1-glicoproteína ácida (AGP) é considerada uma APP moderadamente positiva em gatos, com um aumento de cerca de 5 a 10 vezes durante a resposta de fase aguda (Rossi et al., 2020; Degenhardt et al., 2023). A SAA comumente apresenta uma resposta precoce frente a estímulos inflamatórios e seu aumento pode ser detectado em estágios iniciais da resposta inflamatória. Por outro lado, a haptoglobina (Hp) é considerada uma proteína de fase aguda moderada em gatos, com aumentos menos significativos e mais tardios em comparação com a AGP e SAA (Helfer-Hungerbuehler et al., 2024).

Soro amiloide A

A SAA é uma importante proteína de fase aguda e nos gatos, principalmente pela amplitude de aumento em respostas a inflamação associado a manutenção da elevação, de até 24 a 48 horas após estímulo, se mantendo elevada por todo o período de inflamação. Estudos recentes demonstram que essa proteína apresenta atividade

quimiotática, inibindo a febre induzida por IL-1 e TNF. Em processos inflamatórios crônicos, seu aumento pode resultar em amiloidose, que se caracteriza por uma deposição de fibrilas amiloide em diversos órgãos, como rim e baço (Degenhardt et al., 2023; Rossi, 2023).

Possui ainda atividade imunomoduladora e pode diminuir os danos causados pelas células inflamatórias, bem como oxidar o colesterol, eliminando os radicais de oxigênio. É um importante marcador prognóstico e pode ser utilizada para monitorar a resposta ao tratamento de doenças como a pancreatite, peritonite infecciosa felina, doença renal e diabetes mellitus (Degenhardt et al., 2023).

A SAA é considerada mais sensível que a PCR nos gatos e aumenta consideravelmente e em maiores taxas nos estágios iniciais das doenças, sendo utilizada como principal biomarcador para determinar tanto o curso, quanto o tratamento das doenças na espécie (Yuki et al., 2020). Apresenta características semelhantes às citocinas, desempenhando um papel essencial na comunicação celular e no *feedback* de processos inflamatórios, estando envolvida em vias imunológicas e protetoras (Cho, Lin e Chung, 2023).

A SAA é apontada como de extrema utilidade na detecção e tratamento precoce de doenças inflamatórias, incluindo infecções, lesões teciduais e traumas e é considerada um fator importante de monitoramento das respostas ao tratamento (Akiyoshi et al., 2023).

Maiores concentrações de SAA podem ser observadas em gatos com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), e seu aumento pode ser considerado um importante marcador prognóstico. Os gatos com sepse podem apresentar um aumento considerável nas concentrações de SAA e bilirrubina total, associado a uma maior frequência de alterações tóxicas em neutrófilos. (Troia et al., 2017).

Alterações leucocitárias

Leucócitos são células envolvidas na resposta inflamatória e o leucograma é utilizado para identificar e caracterizar a inflamação, bem como sua gravidade. Apesar disso, o leucograma pode não ser sensível para inflamações leves ou crônicas e uma contagem dentro dos valores de referência não exclui a possibilidade de doenças inflamatórias. Testes mais sensíveis, como a PCR em cães e a SAA em gatos podem ser mais precisos na detecção desses processos. O leucograma também não

confirma infecções, embora a presença de neutrófilos imaturos e apresentando toxicidade possam sugerir quadros infecciosos (Tvedten e Raskin, 2011).

Nos processos inflamatórios agudos, observa-se leucocitose por neutrofilia, que ocorre de forma rápida devido à alta proporção do *pool* marginal de neutrófilos em relação ao circulante, especialmente em gatos, cuja proporção chega a ser de 3:1. A leucocitose pode ou não ser acompanhada de desvio à esquerda, em que há aumento de neutrófilos imaturos. Junto à neutrofilia, há uma diminuição de eosinófilos e aumento de linfócitos. Apesar de, em muitas espécies verificar-se linfopenia durante processos inflamatórios agudos, os gatos frequentemente apresentam linfocitose, que também pode ser observada em situações adrenérgicas decorrente de avaliação clínica, contenção ou coleta de sangue. Sendo assim, o aumento de linfócitos nos gatos também é uma resposta à excitação, podendo interferir na relação neutrófilo: linfócito (RNL) e consequentemente, na interpretação do leucograma (Krasztel et al., 2022).

Neutrofilia e hiperatividade plaquetária também são alterações comuns durante episódios de estresse associados à liberação de epinefrina. Esses achados podem ser confundidos com sinais de inflamação ou infecção (Stella, Croney e Buffington et al., 2013; Horwitz e Rodan, 2018).

No estudo realizado por Krofiřc Źel et al. (2024), foram avaliados marcadores inflamatórios provenientes do hemograma em gatos com doença renal crônica (DRC) e os achados sugeriram que as alterações podem refletir inflamação sistêmica, sendo uma alternativa prática, além de estarem frequentemente disponíveis em clínicas veterinárias, sendo úteis no monitoramento da progressão da doença. Adicionalmente, os resultados indicaram que, embora a idade dos gatos com DRC tenha sido significativamente maior que a do grupo controle, essa diferença não afetou a análise dos marcadores inflamatórios. Em resumo, a avaliação hematológica pode ser um recurso valioso para o monitoramento de processos inflamatórios crônicos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a correlação entre o aumento da SAA e alterações hematológicas e bioquímicas em felinos.

Objetivos específicos

- Identificar o poder discriminatório da SAA para diferenciar leucocitose inflamatória de leucocitose por estresse;
- Identificar a correlação da concentração de SAA com animais leucopênicos;
- Identificar a correlação da concentração de SAA com animais com leucócitos dentro dos valores de referência da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), Campus Botucatu, São Paulo. O protocolo correspondente é o de número 000.229.

Foram selecionados 79 pacientes, atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), Campus Botucatu, São Paulo. Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

O grupo 1 (G1 - controle), foi composto por pacientes com leucócitos dentro dos valores de referência para a espécie felina (VR: 5.000-19.000/ uL; Stockham e Scott, 2008), sem sinais clínicos de doenças ou inflamações, composto por 30 gatos com idades entre 5 meses e 14 anos.

O grupo 2 (G2 – leucocitose por estresse) foi formado por 9 pacientes com idades entre 3 meses e 17 anos, apresentando leucocitose, mas sem evidência clínica de doenças ou inflamação.

O grupo 3 (G3 - leucocitose inflamatória), caracterizado por pacientes com leucocitose e sinais clínicos de doenças e/ou inflamação, como apatia, anorexia, vômitos, diarreia, dispneia, taquipneia, taquicardia e/ou dor abdominal, composto por 15 gatos com idades entre 1 e 18 anos.

O grupo 4 (G4 - leucopenia) foi formado por 26 animais, de 2,5 meses a 16 anos, com leucopenia, sem sinais clínicos de doenças ou inflamação. Todos os animais passaram por avaliação clínica e coleta de sangue para análise hematológica e bioquímica, além da dosagem da SAA.

Foram excluídos animais em que não foi possível determinar se a leucocitose era inflamatória ou por estresse a partir dos sinais clínicos supracitados, histórico e outros achados laboratoriais.

Para a avaliação hematológica, foi coletado cerca de 0,5 mL de sangue por punção na veia cefálica com agulha 30x7 e seringa de 3mL, transferido para um tubo com EDTA-K3 (ácido etileno diamino tetracético potássico) para realizar o hemograma, composto por eritrograma, leucograma e trombograma em analisador hematológico automático (ABX Micros ESV 60, Horiba® Medical). Para a análise bioquímica, foi coletado aproximadamente 1,0 mL de sangue de cada paciente da mesma forma, transferido para um tubo sem anticoagulante e centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos para obtenção do soro. Foram mensurados os parâmetros proteínas totais, albumina, globulina, ureia, creatinina, fósforo, alanina aminotransferase/ALT, fosfatase alcalina/FA e gama glutamiltransferase/GGT. As análises foram feitas com um espectrofotômetro semiautomático (LABQUEST®), utilizando kits comerciais de reagentes (LABTEST®), conforme o protocolo do Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da FMVZ, UNESP, Botucatu, SP.

Uma fração do soro obtido para a bioquímica sérica foi destinada para mensuração da SAA. A detecção semi-quantitativa (valores inferiores a 5 são liberados como <5 sem distinção) foi realizada com o equipamento VCHECK V200, utilizando o método de Imunoensaio Fluorescente (FIA), que possui sensibilidade para detectar concentrações de 5-200 µg/mL de SAA. Uma alíquota de 5µL de soro de cada animal foi coletada com micropipeta, transferida para um frasco contendo tampão diluente e homogeneizada. Posteriormente, 100µL solução preparada foram pipetados e transferidos para a cavidade de amostra do cartucho e inserido no equipamento, iniciando a leitura. O resultado foi apresentado na tela do aparelho cinco minutos após a inserção da amostra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Akiyoshi M., Hisasue M., Neo S., Akiyoshi M. Serum amyloid A (SAA) concentration in cats with gastrointestinal lymphoma. **J Vet Med Sci.** 2023 Aug;85(8):867-75. DOI: 10.1292/jvms.23-0043.

Badolato R., Wang J. M., Murphy W. J., Lloyd A. R., Michiel D. F., Bausserman L. L., Kelvin D. J., Oppenheim J. J. Serum amyloid A is a chemoattractant: induction of

migration, adhesion, and tissue infiltration of monocytes and polymorphonuclear leukocytes. **J Exp Med**. 1994 Jul 1;180(1):203-9. DOI: 10.1084/jem.180.1.203.

Bazzano M., Marchegiani A., Troisi A., McLean A., Laus F. Serum Amyloid A as a promising biomarker in domestic animals' reproduction: current knowledge and future perspective. **Animals**. 2022 May;12(5):589. DOI: 10.3390/ani12050589.

Boraschi D. What is IL-1 for? The functions of interleukin-1 across evolution. *Front Immunol*. 2022;13:872155. DOI: 10.3389/fimmu.2022.872155.

Carretón E., Cerón J. J., Martínez-Subiela S., Tvarijonavičiūtė A., Caro-Vadillo A., Montoya-Alonso J. A. Acute phase proteins and markers of oxidative stress to assess the severity of the pulmonary hypertension in heartworm-infected dogs. **Parasit Vectors**. 2017;10(Suppl 2):477. DOI: 10.1186/s13071-017-2426-8.

Cerón J. J., Eckersall P. D., Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet Clin Pathol**. 2005;99. DOI: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x.

Cho W. Y., Lin L. S., Chung C. S. Serum alpha 1-acid glycoprotein and interleukin-8 elevations in felines with localized and metastatic tumors. **Am J Vet Res**. 2023 Nov 11;85(1):ajvr.23.08.0179. DOI: 10.2460/ajvr.23.08.0179.

Degenhardt L., Dorsch R., Hartmann K., Dörfelt R. Serum amyloid A in cats with renal azotemia. **Vet World**. 2023 Aug;16(10):1673-81. DOI: 10.14202/vetworld.2023.1673-1681.

Fishbein A., Hammock B. D., Serhan C. N., Panigrahy D. Carcinogenesis: failure of resolution of inflammation?. **Pharmacol Ther**. 2021 Feb;218:107670. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107670.

Hazuchova K., Held S., Neiger R. Usefulness of acute phase proteins in differentiating between feline infectious peritonitis and other diseases in cats with body cavity effusions. **J Feline Med Surg**. 2017;19(8):809-16. DOI: 10.1177/1098612X16658925.

Helfer-Hungerbuehler A. K., Spiri A. M., Meili T., Riond B., Krentz D., Zwicklbauer K., Buchta K., Zuzi-Krebitz A. M., Hartmann K., Hofmann-Lehmann R. Alpha-1-Acid Glycoprotein Quantification via Spatial Proximity Analyte Reagent Capture Luminescence Assay: application as diagnostic and prognostic marker in serum and effusions of cats with feline infectious peritonitis undergoing gs-441524 therapy. **Viruses**. 2024 May 16;16(5):791. DOI: 10.3390/v16050791.

Horwitz D. F., Rodan I. Behavioral awareness in the feline consultation: Understanding physical and emotional health. **J Feline Med Surg.** 2018 May;20(5):423-36. DOI: 10.1177/1098612X18771204.

Krasztel M. M., Czopowicz M., Szaluś-Jordanow O., Moroz A., Mickiewicz M., Kaba J. Accuracy of acute-phase proteins in identifying lethargic and anorectic cats with increased serum feline pancreatic lipase immunoreactivity. **Vet Clin Pathol.** 2022 Feb;51(1):93-100. DOI: 10.1111/vcp.13097.

Krofič Ž. M., Nemec Svete A., Tozon N., Pavlin D. Hemogram-Derived Inflammatory Markers in Cats with Chronic Kidney Disease. **Animals.** 2024;14(12):1813. DOI: 10.3390/ani14121813.

Kumar V., Abbas A. K., Aster J. C. Robbins Basic Pathology. 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Health Sciences Division; 2017.

Liu G., Jiang C., Lin X., Yang Y. Point-of-care detection of cytokines in cytokine storm management and beyond: significance and challenges. **View (Beijing).** 2021 Aug;2(4):20210003. DOI: 10.1002/VIW.20210003.

Luecke S., et al. Tonic TNF conditioning of macrophages safeguards stimulus-specific inflammatory responses. **EMBO Rep.** 2023 Jul 5;24(7):e55986. DOI: 10.15252/embr.202255986.

Maddipati K. R. Non-inflammatory physiology of “inflammatory” mediators unalamination, a new paradigm. **Front Immunol.** 2020 Oct 30;11:580117. DOI: 10.3389/fimmu.2020.580117.

Mantovani A., Garlanda C. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. **N Engl J Med.** 2023 Feb 2;388(5):439-52. DOI: 10.1056/nejmra2206346.

Megha K. B., Joseph X., Akhil V., Mohanan P. V. Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders. **Phytomedicine.** 2021 Oct;91:153712. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153712.

Moccia V., Vogt A.-C., Ricagno S., Callegari C., Vogel M., Zini E., Ferro S. Histological evaluation of the distribution of systemic AA amyloidosis in nine domestic shorthair cats. **PLoS One.** 2023 Nov;18(11):e0293892. DOI: 10.1371/journal.pone.0293892.

Mokhtari Y., Pourbagheri-Sigaroodi A., Zafari P., Bagheri N., Ghaffari S. H., Bashash D. Toll-like receptors (TLRs): an old family of immune receptors with a new face in cancer pathogenesis. **J Cell Mol Med.** 2020 Dec 18;25(2):639-51. DOI: 10.1111/jcmm.16214.

Ostrycharz E., Hukowska-Szematowicz B. New insights into the role of the complement system in human viral diseases. **Biomolecules**. 2022;12(2):226. DOI: 10.3390/biom12020226.

Paltrinieri S. The feline acute phase reaction. **Vet J.** 2007 Aug 7. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.06.005.

Rajabi A., Mogheiseh A., Nazifi S., Ahrari-Khafi M. S., Dehghanian A. R., Vesal N., Bigham S. A. Effect of direct therapeutic ultrasound exposure of ovaries on histopathology, inflammatory response, and oxidative stress in dogs. **BMC Vet Res**. 2023 Jul 20;19(1):88. DOI: 10.1186/s12917-023-03657-6.

Rossi G., Meazzi S., Giordano A., Paltrinieri S. Serum paraoxonase 1 activity in cats: analytical validation, reference intervals, and correlation with serum amyloid A and alpha-1-acid glycoprotein. **J Vet Diagn Invest**. 2020 Aug 17;32(6):844-55. DOI: 10.1177/1040638720949638.

Rossi G. Acute phase proteins in cats: Diagnostic and prognostic role, future directions, and analytical challenges. **Vet Clin Pathol**. 2023 Feb 5;52(Suppl 1):37-49. DOI: 10.1111/vcp.13238.

Stella J., Croney C., Buffington T. Effects of stressors on the behavior and physiology of domestic cats. **Appl Anim Behav Sci**. 2013;143(2-4):157-63. DOI: 10.1016/j.applanim.2012.10.01.

Stockham S., Scott M.. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2nd ed. **Ames: Blackwell**; 2008.

Takashi T., Ohno K., Goto-Koshino Y., Tsujimoto H. Feline serum amyloid A protein as an endogenous Toll-like receptor 4 agonist. **Vet Immunol Immunopathol**. 2013 Sep;155(3):190-6. DOI: 10.1016/j.vetimm.2013.06.010.

Takashi T., Ohno K., Goto-Koshino Y., Tsujimoto H. Serum Amyloid A promotes invasion of feline mammary carcinoma cells. **J Vet Med Sci**. 2014 Aug;76(8):1183-8. DOI: 10.1292/jvms.14-0108.

Troia R., Gruarin M., Foglia A., Agnoli C., Dondi F., Giunti M. Serum amyloid A in the diagnosis of feline sepsis. **J Vet Diagn Invest**. 2017 Jul 28;29(6):856-59.

Tvedten H. W., Raskin R. E. Leukocyte disorders. In: *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 4th ed. **St. Louis: Elsevier**; 2011. p. 63-91.

Zhang H., Gao J., Tang Y., Jin T., Tao J. Inflammasomes cross-talk with lymphocytes to connect the innate and adaptive immune response. **J Adv Res**. 2023 Dec;54:181-93. DOI: 10.1016/j.jare.2023.01.012.

Zhang J., Li K., Qiu X. Exploring causal correlations between inflammatory cytokines and knee osteoarthritis: a two-sample Mendelian randomization. **Front Immunol**. 2024;15:1362012. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1362012.

Yang A., Wu Y., Yu G., Wang H. Role of specialized pro-resolving lipid mediators in pulmonary inflammation diseases: mechanisms and development. **Respir Res**. 2021 Oct;22:204. DOI: 10.1186/s12931-021-01792-y.

Yuki M., Aoyama R., Nakagawa M., Hirano T., Naitoh E., Kainuma D. A clinical investigation on serum amyloid A concentration in client-owned healthy and diseased cats in a primary care animal hospital. **Vet Sci**. 2020 Apr 15;7(2):45. DOI: 10.3390/vetsci7020045.

CAPÍTULO 2

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os pacientes avaliados, 79 gatos puderam ser incluídos no estudo, separados em grupos de acordo, não apenas pela contagem dos leucócitos totais, mas também pela interpretação do leucograma. Dessa forma, 30 gatos foram incluídos no grupo 1 (G1 – controle/ leucometria normal), 8 no grupo 2 (leucocitose por estresse), 15 no grupo 3 (leucocitose de origem inflamatória) e 26 no grupo 4 (leucopenia) (Fig. 1). Nos casos em que a bioquímica sérica se fez necessária para interpretação dos casos, foi incluída para correlação dos achados. A média e desvio padrão dos resultados de hemograma e bioquímica dos quatro grupos avaliados podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1: Média e desvio padrão dos resultados de hemograma e bioquímica dos 4 grupos avaliados.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
SAA (µg/mL)	24,9 ±34,4	5,3 ±5,0	32,5 ±27,2	6,6 ± 3,9
Leucócitos totais (10 ³ /uL)	10,63 ± 3,79	25,78 ±6,21	29,13 ±8,98	4,35±0,84
Hemácias (10 ⁶ /uL)	8,25 ± 1,42	6,32 ± 1,97	6,97 ± 1,80	8,48 ± 1,98
Hemoglobina (g/dL)	13,04 ± 2,29	10,36 ± 2,68	10,97 ± 2,43	12,84 ± ,196
Volume Globular (%)	38,47 ± 6,33	31,5 ± 8,41	32,7 ± 6,92	39,07 ± 6,03
VCM (fl)	46,86 ± 4,09	50,79 ± 4,85	46, 79 ± 5,01	45,00 ± 6,91
CHCM (g/dL)	33,84 ± 1,45	32,99 ± 1,21	33,52 ± 1,41	32,89 ± 1,56
RDW (%)	15,90 ± 1,95	15,94 ± 1,4	16,48 ± 2,69	17,67 ± 5,77
Plaquetas (10 ³ /uL)	265,03 ± 117,22	207,13 ± 128,4	304,13 ± 393, 59	275,12 ± 138,41
Neutrófilos (10 ³ /uL)	7,28 ± 3,90	22,25 ± 6,09	23,19 ± 8,01	2,60 ± 0,96
Linfócitos (10 ³ /uL)	2,63 ± 1,63	1,42 ± 0,66	3,36 ± 3,32	1,38 ± 0,67

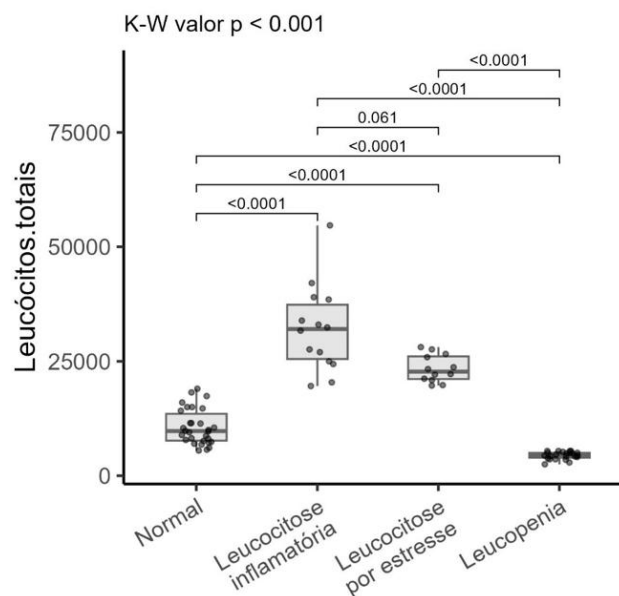
Monócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	$0,30 \pm 0,27$	$1,12 \pm 0,97$	$0,73 \pm 0,59$	$0,09 \pm 0,08$
Eosinófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	$0,38 \pm 0,53$	$0,96 \pm 1,17$	$0,96 \pm 1,10$	$0,23 \pm 0,16$
Basófilos ($10^3/\mu\text{L}$)	0	0	0	$0,002 \pm 0,01$
Ureia (UI/L)	$85,3 \pm 77,63$	$90,4 \pm 92,88$	$89,05 \pm 71,81$	$65,17 \pm 33,15$
Creatinina (mg/dL)	$3,2 \pm 2,13$	$1,57 \pm 1,62$	$1,84 \pm 1,39$	$1,64 \pm 0,96$
Proteína Sérica (g/dL)	$5,95 \pm 0,85$	$7,77 \pm 1,33$	$5,12 \pm 2,17$	$4,41 \pm 1,41$
Albumina (g/dL)	$3,16 \pm 0,33$	$3,3 \pm 0,53$	$4,71 \pm 1,97$	$5,43 \pm 2,04$
ALT (UI/L)	$43,66 \pm 72,23$	$43,8 \pm 29,65$	$170,76 \pm 389,58$	$83,50 \pm 133,25$
GGT (UI/L)	$1,88 \pm 0,23$	$1,8 \pm 0,25$	$2,8 \pm 1,48$	$1,91 \pm 0,41$
FA (UI/L)	$50,39 \pm 19,13$	$51,36 \pm 21,94$	$73,02 \pm 57,19$	$38,89 \pm 10,79$

Como mostrado na tabela 1, os pacientes do G3 apresentaram média elevada de SAA, o que é esperado, visto que ela é uma proteína de fase aguda positiva, frequentemente associada a processos inflamatórios, sendo um marcador importante tanto diagnóstico quanto prognóstico em gatos. O G1 também teve uma média alta de SAA, com 20% dos pacientes apresentando níveis elevados dessa proteína, o que pode sugerir o início de um processo inflamatório ainda não identificado no hemograma. Um estudo prévio (Vitor et al., 2024) observou gatos com níveis elevados de SAA sem outras alterações laboratoriais ou clínicas, que depois desenvolveram sinais clínicos de rinotraqueíte felina, destacando a SAA como um marcador precoce de inflamação.

A média inferior de hemácias, hemoglobina e hematócrito no G3 pode ter sido decorrente do processo inflamatório em curso. A inflamação altera o metabolismo do ferro e a produção de hemácias, contribuindo para a redução desses valores no sangue. O aumento das citocinas inflamatórias promove a produção de hepcidina, que regula o ferro no corpo e reduz a liberação do ferro para a corrente sanguínea. Além disso, o processo inflamatório pode agravar a anemia devido à maior fagocitose das hemácias e diminuição de sua vida útil (Hunt e Jugan, 2021). Durante a fase aguda da inflamação, há uma queda na transferrina e aumento da ferritina, o que ajuda a reduzir a disponibilidade de ferro para as bactérias, inibindo sua proliferação (Céron, Eckersall e Martínez-Subiela, 2005).

O aumento da média de ALT no G3 pode ser explicado pela presença de um paciente com uma dosagem de 1.403,1 UI/L dessa enzima, valor significativamente alto, o que elevou a média do grupo. As principais causas de elevação de ALT em gatos incluem hipóxia, alterações metabólicas, toxinas bacterianas, neoplasias hepáticas e uso de medicamentos. Há um rápido aumento após a lesão hepática, com

pico em 1-2 dias, e diminui gradualmente ao longo de semanas, caso o fator desencadeante seja cessado (Thrall et al., 2022). Os demais analitos avaliados não apresentaram diferenças significativas.



K-W= teste estatístico de Kruskal-Wallis; p= valor de significância. Os boxplots apresentam cinco medidas sendo elas: mínimo, 1º quartil, mediana, 3º quartil e máximo. Os valores p dos testes de comparações múltiplas se encontram ligando as duplas.

Figura 1: Comparação da leucometria total entre os grupos de gatos avaliados (n=79) separados em diferentes grupos (leucometria normal n=30, leucocitose inflamatória n=14, por estresse n=12 ou leucopenia=23).

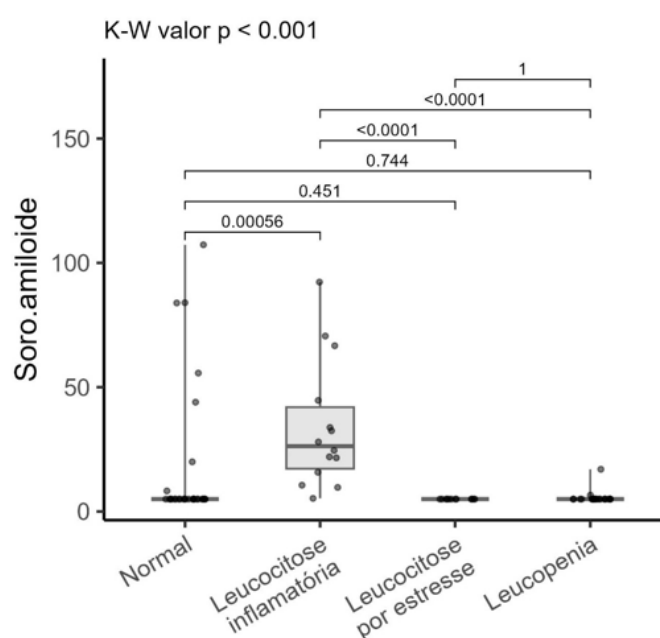
Os valores da leucometria total diferenciaram os gatos de diferentes grupos, com exceção da comparação entre inflamação e estresse. Os valores médios seguidos do desvio padrão da leucometria total nos diferentes grupos e concentração sérica de SAA encontram-se na tabela 1.

A leucocitose nas reações de fase aguda em felinos tem um comportamento dicotômico, ou seja, pode ser observada tanto em resposta a inflamação quanto a situações de estresse, excitação ou medo. Por esse motivo, não é possível diferenciar essas condições apenas com base na contagem total de leucócitos (leucometria global).

A leucocitose ocorre rapidamente devido à liberação de neutrófilos do "pool marginal" (neutrófilos que estão aderidos ao endotélio) para a circulação sanguínea,

um processo mediado pelo cortisol e pela interleucina-1 (IL-1). Nos gatos, a proporção de leucócitos circulantes para marginais é de cerca de 1:3, enquanto em outras espécies é 1:1. Isso torna a resposta inflamatória dos gatos um pouco diferente. Contudo, os neutrófilos possuem vida curta e migram rapidamente para os tecidos inflamados. Além disso, ocorre a ativação da mielopoiese, estimulada por citocinas como IL-1 e TNF- α . Esse processo pode levar de horas a dias, e a maturação dos neutrófilos é acelerada em resposta à inflamação (Paltrinieri, 2007).

Em resumo, a leucocitose observada em gatos durante inflamações pode ser confundida com situações de estresse, e a interpretação deve considerar outros fatores além da leucometria global, como a presença de sinais clínicos específicos.



SAA= soro amiloide A; K-W= Kruskal Wallis; p= valor de significância. Os boxplots apresentam cinco medidas sendo elas: mínimo, 1° quartil, mediana, 3° quartil e máximo. Os valores p dos testes de comparações múltiplas se encontram ligando as duplas.

Figura 2: Apresentação gráfica de SAA analisada em gatos com diferentes classificações da leucometria.

Na avaliação de SAA, pode-se observar diferença quanto as globulinas na avaliação global e entre os grupos (Fig. 2), destacando-se as maiores diferenças entre G1 x G3 ($p=0,00056$), G3 x G2 ($p<0,0001$) e G3 x G4 ($p<0,0001$), não havendo como diferenciar pacientes normais de portadores de estresse e/ou leucopenia ($p>0,05$).

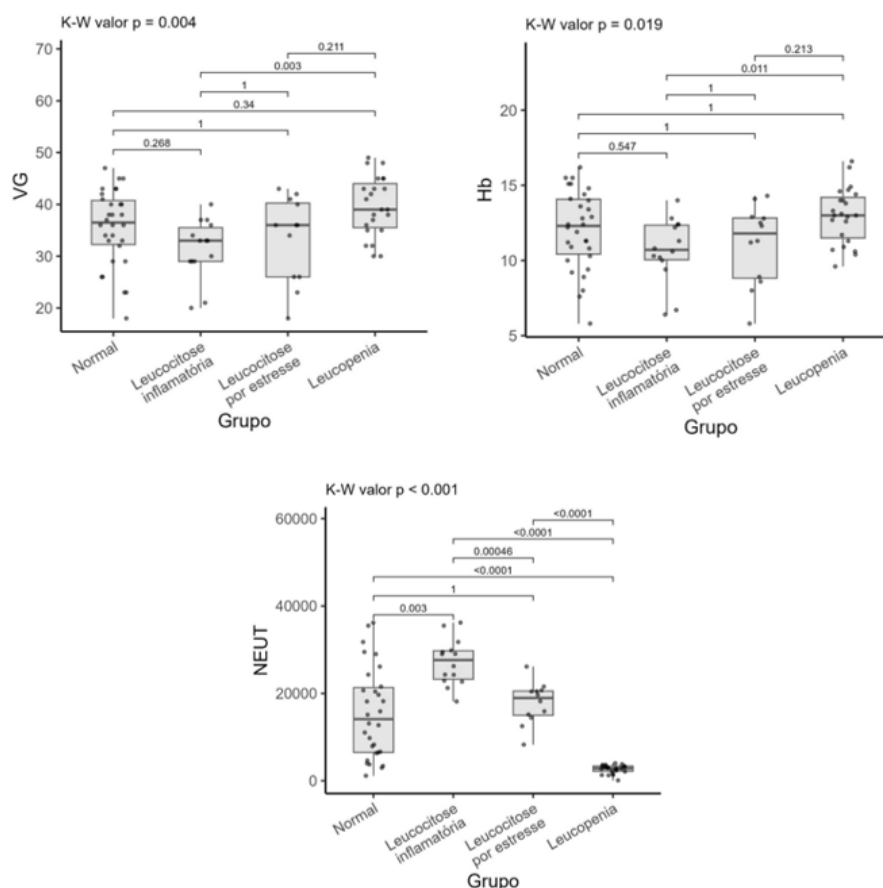
Nos gatos, o SAA pode aumentar de 10 a 50 vezes sua concentração normal 24 a 48 horas após a exposição a um estímulo patogênico, e os níveis permanecem

elevados durante a inflamação. Essa APP tem atividade imunomoduladora, ajudando a reduzir danos celulares inflamatórios e a oxidar o colesterol, sendo considerada um marcador prognóstico para várias doenças felinas e pode ser usado para monitorar a resposta ao tratamento, como em casos de pancreatite e peritonite infecciosa felina.

Os maiores valores de SAA em G3 estão associados ao processo inflamatório estabelecido, já a manutenção de SAA dentro dos valores de referência nos pacientes do grupo G3 pode ser explicado pela possibilidade de a SAA ter retornado aos níveis normais após a resolução dos sintomas, antes do momento da coleta, que não foi padronizado.

Conforme mencionado por Cray, Zaias e Altmanum, 2009, em um gato com pancreatite, foi observado um aumento rápido de SAA logo após o início dos sintomas, enquanto a contagem de leucócitos permaneceu normal. As proteínas de fase aguda, como a SAA, podem aumentar em poucas horas após o início da inflamação. Já a resposta leucocitária, que depende, dentre outros fatores, da produção de novas células pela medula óssea, pode levar mais tempo para se manifestar.

A figura 2 fornece uma análise comparativa dos dados para os principais analitos que demonstraram diferença estatística na hematologia entre os grupos de gatos separados quanto a interpretação da leucometria.



VG= volume globular (%); HB= hemoglobina (g/dL); NEUT= neutrófilos segmentados (/uL); K-W= Kruskal Wallis; p= valor de significância. Os boxplots apresentam cinco medidas sendo elas: mínimo, 1º quartil, mediana, 3º quartil e máximo. Os valores p dos testes de comparações múltiplas se encontram ligando as duplas.

Figura 3: Prancha de boxplots apresentando os principais analitos que demonstraram diferença estatística na hematologia entre os grupos de gatos separados quanto a interpretação da leucometria.

Ao se avaliar as variáveis hematológicas notou-se diferença dos parâmetros eritrocitários na avaliação global e bom padrão de diferenciação entre gatos do G2 x G4 ($p=0,003$). O padrão eritrocitário demonstra tendência a anemia nos pacientes com inflamação (redução de VG e HB). Não foram apresentados os bloxplots da contagem de hemácias visto que os valores seguiram os mesmos padrões dos da HB e do VG.

Observou-se uma tendência à anemia nos pacientes do grupo G3 (Fig. 2). Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato de que processos inflamatórios aumentam a produção de citocinas inflamatórias, que, por sua vez, estimulam a produção de hepcidina. A hepcidina regula o ferro no organismo, promovendo a internalização da

ferroportina, uma proteína responsável pelo transporte de ferro das células para a corrente sanguínea. Isso pode resultar em redução da disponibilidade de ferro para a produção de hemácias, contribuindo para o desenvolvimento da anemia (Hunt e Jugan, 2021).

A IL-6, uma das citocinas com importante papel no processo inflamatório, induz a produção de hepcidina, que restringe a absorção de ferro no intestino e aumenta sua retenção nos macrófagos, contribuindo para a hipoferremia. Já a IL-1 e TNF- α reduzem a produção de eritropoietina (EPO), que é essencial para a produção das hemácias, o que contribui ainda mais para a anemia. Ademais, a medula óssea pode não responder adequadamente à EPO em inflamações crônicas, resultando em anemia persistente. Há também mecanismos de apoptose das células precursoras, diminuição do receptor de EPO nas células eritroides e menor número de unidades formadoras de colônias eritroides (Chikazawa e Dunning, 2016).

Vale ressaltar ainda que durante a fase aguda da inflamação ocorre uma diminuição na transferrina, que é uma proteína de fase aguda negativa e aumento da ferritina. Essa resposta é mediada por proteínas como a lipocalina e ajuda a reduzir a disponibilidade de ferro para bactérias, evitando sua proliferação (Céron, Eckersall e Martínez-Subiela, 2005). Além disso, proteínas como a hepcidina, ferritina, haptoglobina e hemopexina desempenham papel essencial nesse processo, agindo não apenas para regular a quantidade de ferro circulante, mas também para proteger o organismo contra os danos causados pelo excesso de ferro, como o estresse oxidativo (Mantovani e Garlanda, 2023).

Na contagem diferencial de leucócitos, os neutrófilos segmentados (NEUT) demarcaram bem a diferença entre os gatos do G1 e G3 ($p=0,003$) ou de G4 ($p<0,0001$) entretanto não conseguiu separar os animais do G1 e G2 ($p=1$). Pacientes com leucopenia, no entanto, se diferenciaram de todos os demais grupos. Apesar de não ter sido possível diferenciar gatos do G1 de G3 ($p=1$) ou G2 ($p=1$), a contagem de neutrófilos diferenciou os gatos com leucopenia de todos os outros grupos.

Sabe-se que os leucócitos são fundamentais na resposta a infecções e outras condições inflamatórias, podendo apresentar alterações tanto em suas contagens quanto na morfologia. Os neutrófilos são as células imunológicas mais abundantes no sangue periférico e desempenham papel fundamental na resposta inflamatória, sendo

rapidamente recrutados para o local acometido pela injúria. Além da função de fagocitose, atuam na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), secreção de proteases e formação de NETs (armadilhas extracelulares de neutrófilos), visando debelar infecções (Zhao et al., 2021). É esperado que essas células balizem a diferença entre pacientes que apresentem leucócitos dentro dos intervalos de referência e os que apresentem leucocitose inflamatória, conforme observado no presente estudo.

A SAA tem demonstrado prolongar a vida útil dos neutrófilos suprimindo a apoptose dessas células. Esse efeito é mediado pela ativação das vias de sinalização ERK (quinases reguladas por sinais extracelulares) e Akt (proteína quinase B), que ajudam a prevenir a disfunção mitocondrial e a ativação da caspase-3, que é uma enzima essencial no processo de apoptose. Contudo, as APPs oferecem vantagens sobre a leucometria como marcadores de inflamação, visto que são mais sensíveis e podem detectar inflamação mesmo quando as contagens de leucócitos não apresentam alterações, como em casos de mielossupressão (Ceron, Eckersall e Martínez-Subiela, 2005).

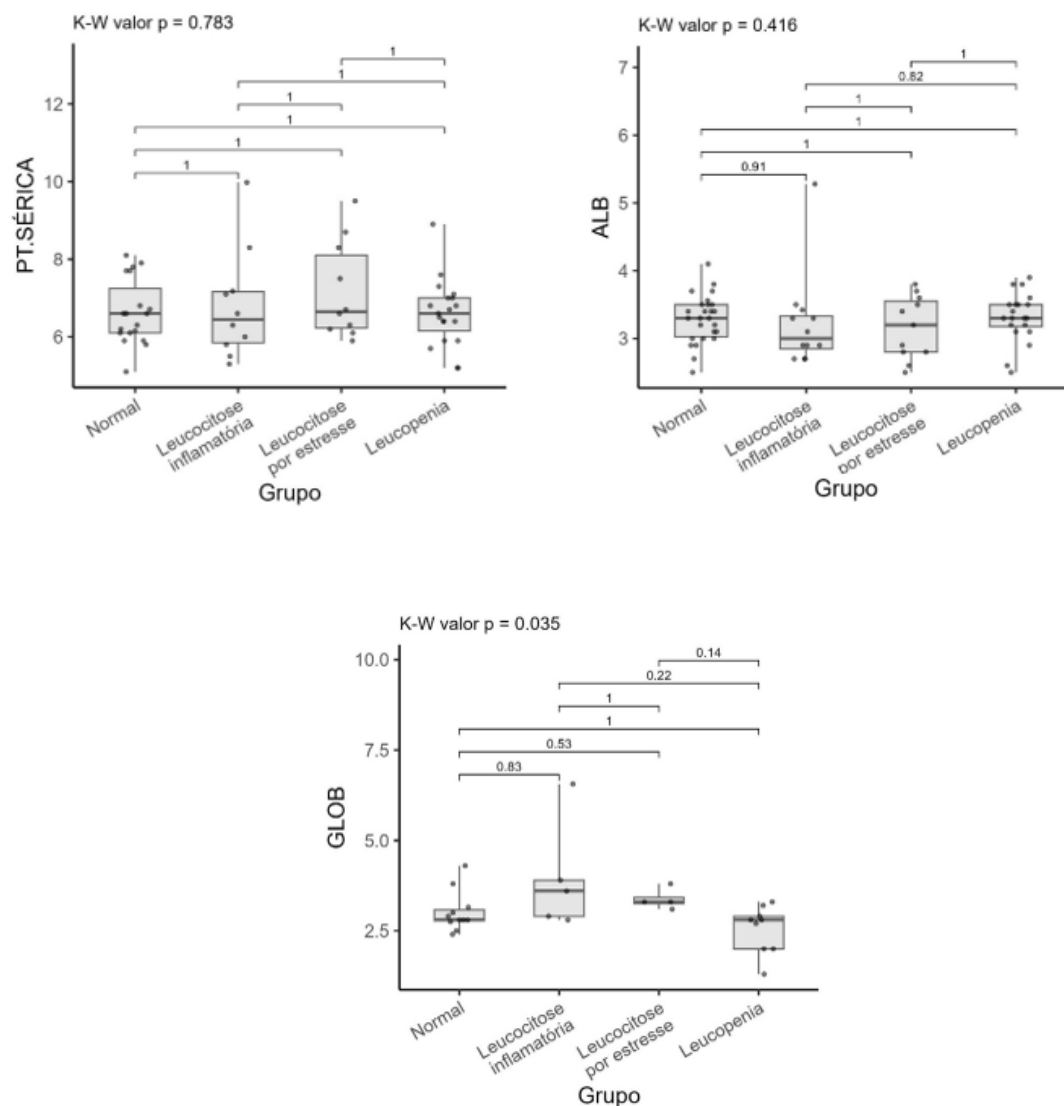
As APPs retornam aos intervalos de referência mais rapidamente do que os parâmetros hematológicos, o que sugere que elas são marcadores úteis para monitorar a remissão de doenças. Isso as torna relevantes para avaliar a recuperação e o progresso do tratamento, fornecendo um indício precoce de melhora no quadro clínico do paciente (Mitchell et al., 2009). Desse modo, uma das hipóteses para que os pacientes do presente estudo que apresentam leucograma com padrão inflamatório sem aumento da SAA é a possibilidade do estímulo inflamatório ter sido cessado antes da colheita do sangue para análise.

O aumento da contagem de neutrófilos em pacientes com leucograma de estresse também é esperado. A resposta leucocitária ao estresse fisiológico é mediada pela liberação de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) pela glândula pituitária e a subsequente liberação de cortisol pela glândula adrenal. Esse processo ocorre em resposta a condições sistêmicas graves, distúrbios metabólicos e dor, como insuficiência renal, cetoacidose diabética, desidratação, doenças inflamatórias e trauma. A neutrofilia ocorre pela redução da viscosidade sanguínea, o que altera a marginação dos neutrófilos, que ficam retidos na circulação (Thrall et al., 2022).

Estudos com diferentes espécies mostram que fatores desencadeantes de estresse, como manejo nutricional, alojamento e transporte, aumentam significativamente os níveis APPs, como a SAA (Cray, 2012). No presente estudo, um paciente que apresentou leucocitose por estresse exibiu aumento da SAA e isso pode ser explicado pela ativação dos eixos simpático-adrenal e hipotálamo-hipófise-adrenal em resposta ao estresse, visto que a liberação de glicocorticoides e citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6, estimular a produção de APPs no fígado (Kim et al., 2011).

Nenhum outro analito do hemograma demonstrou diferença significativa global ou individual e, por isso não foi apresentado. As planilhas completas podem ser observadas nos anexos.

Na análise das proteínas disponíveis notou-se que animais de todos os grupos foram estatisticamente equivalentes ao se considerar as concentrações séricas de proteínas totais ($p < 0,05$), entretanto houve diferença quanto a albumina entre G1 x G3 ($p = 0,91$) e G3 x G4 ($p = 0,82$) e quanto a globulina entre G1 x G3 ($p = 0,83$), G1 x G2 ($p = 0,22$) e G2 x G4 ($p = 0,14$). Maiores concentrações de globulinas foram observadas em G3, o que corrobora com o aumento dessas proteínas em processos inflamatórios, bem como a redução da albumina. A hiperglobulinemia observada em alguns pacientes pode ocorrer por hemoconcentração, inflamação crônica, doenças infecciosas e neoplasias linfoides. A dosagem das globulinas é obtida pela subtração da albumina da proteína total, e erros podem afetar os resultados. Para diferenciar as causas de hiperglobulinemia, deve ser realizada uma eletroforese (Stockham e Scott, 2022). A hemoconcentração também está associada à hiperalbuminemia e pode ter causado um aumento falso nos níveis de albumina nos pacientes avaliados.



PT= proteína total; ALB= albumina sérica; GLOB= globulinas (calculada pela diferença entre PT e ALB); K-W= Kruskal Wallis; p= valor de significância. Os boxplots apresentam cinco medidas sendo elas: mínimo, 1º quartil, mediana, 3º quartil e máximo. Os valores p dos testes de comparações múltiplas se encontram ligando as duplas.

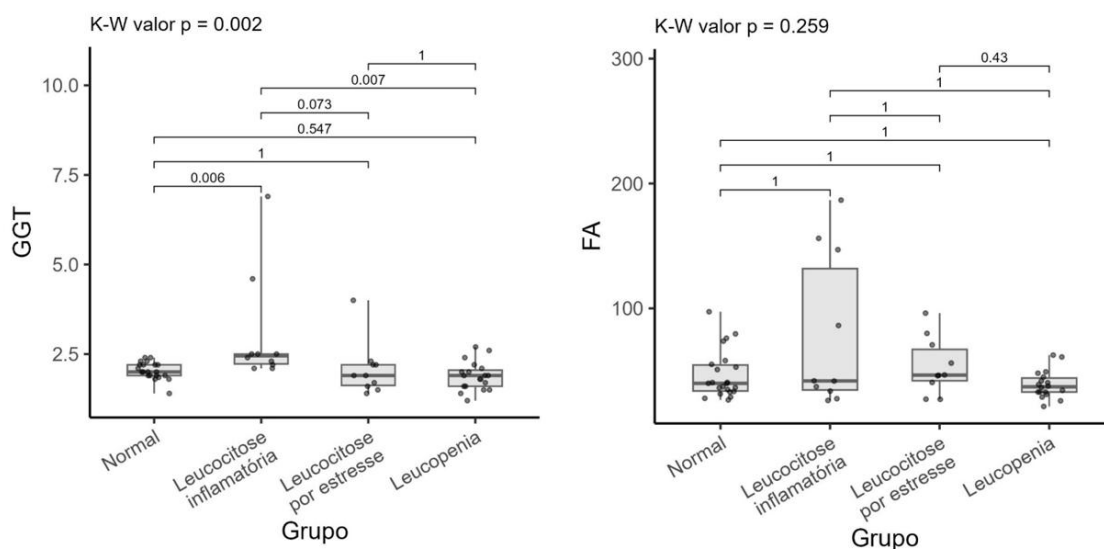
Figura 4: Apresentação gráfica das proteínas totais e frações analisadas em gatos com diferentes classificações da leucometria.

Durante processos inflamatórios, os níveis de albumina tendem a diminuir e os de globulina aumentar. A redução na síntese de albumina é interpretada como uma estratégia do organismo para priorizar a produção de proteínas de fase aguda positivas, como a SAA e globulinas (Cray, Zaias e Altman, 2009), corroborando com os resultados, que evidenciaram diferenças estatísticas nessas proteínas entre os grupos avaliados.

Vale apontar ainda que apesar de a albumina ser considerada uma proteína de fase aguda negativa, sua diminuição pode ser causada por diversos mecanismos

patológicos além da redução da sua produção hepática, como por exemplo, perda de proteína devido a doenças renais ou gastrointestinais, ou ainda, extravasamento de albumina para os locais de inflamação, o que também pode afetar a concentração sérica dessa proteína (Donato et al., 2024). Além do mais, a hipoalbuminemia em gatos é um tema pouco explorado, especialmente quando comparado com cães. Alguns estudos associam a hipoalbuminemia a condições específicas, como lipidose hepática e linfoma alimentar de alto grau, mas não há consenso sobre seu valor prognóstico. Apesar de ser amplamente reconhecida em cães como fator importante na morbidade e mortalidade, a literatura sobre prevalência, causas, patogênese e implicações prognósticas da hipoalbuminemia felina é limitada (Fong et al., 2024).

Ao se analisar os demais parâmetros do perfil bioquímico dos animais selecionados para o estudo, que incluiu: ureia, creatinina, fósforo, alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e gama glutamiltransferase (GGT), notou-se diferença estatística apenas na GGT. Para melhor interpretação suas atividades foram apresentadas lado-a-lado com as da fosfatase alcalina (Fig. 5).



GGT= gama glutamiltransferase; FA= fosfatase alcalina; K-W= Kruskal Wallis; p= valor de significância. Os boxplots apresentam cinco medidas sendo elas: mínimo, 1º quartil, mediana, 3º quartil e máximo. Os valores p dos testes de comparações múltiplas se encontram ligando as duplas.

Figura 5: Atividades séricas (UI/L) de gama glutamiltransferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) de gatos com diferentes interpretações da leucometria.

A GGT (gama-glutamiltransferase) é uma enzima de indução que está presente em diversos tecidos, com maiores concentrações no pâncreas, rins e fígado. O aumento de GGT pode ocorrer em resposta à colestase, hiperplasia biliar, ou uso de

medicamentos, como corticosteroides e anticonvulsivantes. Em gatos, essa enzima é mais sensível, mas menos específica (Thrall et al., 2022). Possivelmente a ausência de diferença estatística nas demais enzimas hepáticas permitem denotar que o aumento da GGT esteja relacionado a alterações pré-analíticas, como lipemia e hemólise. As concentrações de enzimas séricas são determinadas pela atividade enzimática, assumindo-se que ela seja proporcional à concentração. No entanto, erros pré-analíticos podem alterar a atividade enzimática, resultando em resultados imprecisos. É importante considerar o tempo entre a coleta e a análise da amostra, já que as enzimas geralmente permanecem estáveis por até 24 horas em soro refrigerado. A lipemia e a hemólise *in vitro* também devem ser evitadas, pois podem interferir nas análises, especialmente em ensaios espectrofotométricos. A hemólise também pode aumentar a atividade enzimática devido à liberação de enzimas presentes nos eritrócitos (Thrall et al., 2016).

CONCLUSÃO

A concentração sérica SAA foi útil na detecção do processo inflamatório em gatos e foi capaz de diferenciar leucocitoses inflamatórias de leucocitose por estresse. A SAA aumentada foi observada em 20% dos pacientes sem alterações hematológicas e clínicas evidentes, que pode sugerir um início de processo inflamatório ainda assintomático, evidenciando seu papel de diagnóstico precoce. O aumento de SAA correlaciona-se positivamente com anemia e leucocitose inflamatória, além de hipoalbuminemia e hiperglobulinemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Ceron J.J., Eckersall, P.D., Martýnez-Subiela, S.. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Vet Clin Pathol**. 2005. Jun;34(2):85-99.. Doi: 10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x. PMID: 15902658.

Chikazawa, S.; Dunning, M. D.. A review of anemia of inflammatory disease in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**. 2016 Jul;57(7):348-53. DOI: 10.1111/jsap.12498

Cray C; Zaias; J., Altman N.H. Acute phase response in animals: a review. **Comp Med**. 2009 Dec;59(6):517-26. PMID: 20034426; PMCID: PMC2798837.

Cray, C.. Acute Phase Proteins in Animals. Progress In Molecular Biology And Translational Science. 2012; 105:113-50. **Elsevier**. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-394596-9.00005-6>.

Silverstein D.. Tornadoes, sepsis, and goal-directed therapy in dogs. **J Vet Emerg Crit Care**. 2012 Aug;22(4):395-7. DOI: 10.1111/j.1476-4431.2012.00784.x

Donato G., Pennisi M.G., Persichetti M.F., Archer J., Masucci M. A.. Retrospective Comparative Evaluation of Selected Blood Cell Ratios, Acute Phase Proteins, and Leukocyte Changes Suggestive of Inflammation in Cats. **Animals**. 2023 Aug 10;13(16):2579. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13162579>

Hunt, A.; Jugan., M. C.. Anemia, iron deficiency, and cobalamin deficiency in cats with chronic gastrointestinal disease. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**., 2021 Jan;35(1):172-178. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.15962>.

Javard, R.; Grimes, C.; Bau-Gaudreault, L.; Dunn, M.. Acute-Phase Proteins and Iron Status in Cats with Chronic Kidney Disease. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**. 2017 Mar;31(2):457-464. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.14661>.

Mantovani A., Garlanda C. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. **N Engl J Med**. 2023 Feb 2;388(5):439-452. DOI: 10.1056/nejmra2206346.

Mitchell, KD; Kruth S.A.; Wood R.D.; Jefferson B.. Serum acute phase protein concentrations in dogs with autoimmune hemolytic anemia. **J Vet Intern Med**. 2009 May-Jun;23(3):585-91. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2009.0282.x.

Paltrinieri S. The feline acute phase reaction. **Vet J.** 2007 Aug 7. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.06.005.

Sasaki, K; Ma, Z; Khatlani, T. S.; Okuda, M; Inokuma, Hi; Onishi, T. Evaluation of Feline Serum Amyloid A (SAA) as an Inflammatory Marker. **Journal Of Veterinary Medical Science**. 2003 Apr;65(4):545-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.65.545>.

Takashi, T; Ohno, K; Takahashi, M; Nakashima, K; Fujino, Y; Tsujimoto, H. Serum amyloid A as a prognostic marker in cats with various diseases. **Journal Of Veterinary Diagnostic Investigation**. 2013 May;25(3): 428-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/1040638713486112>

Thrall, M. A. 2016. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. In: Perspectives in laboratory Data interpretation and disease diagnostic. Weiser, G., Allison, R. W. (Eds). 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. pp. 46-48.

Thrall, M. A. 2022. **Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology**. In: Laboratory Evaluation of the Liver. Allison, R. W. (Eds). 3. ed. Wiley-Blackwell, Inc. pp. 433-434.

Vitor, R. C.; Oliveira, J. T. S.; Navarro, A. W. M.; Lima, A. C. Ribeiro; Oliveira, G. M. S.; Munhoz, A. D.; Seva, A. P.; Guedes, P. E. B.; Carlos, R. S. A.. Body Condition Scores in Cats and Associations with Systolic Blood Pressure, Glucose Homeostasis, and Systemic Inflammation. **Veterinary Sciences**. 2024 Mar 28;11(4):151. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/vetsci11040151>.

Stockham S. & Scott M.. 2022. Proteins. In: Friedrichs, K. R., Scott, M. A. & Stockham, S. L. (Eds). **Fundamentals of veterinary clinical pathology**. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. pp-486-508.

ANEXOS

Anexo 1: Estatística descritiva das variáveis do estudo, realizada para todos os pacientes disponíveis no banco de dados e separadamente para cada um dos grupos. Análise global (overall) e par-a-par.

Variável	Grupo	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil (25%)	Mediana (50%)	3º Quartil (75%)	Máxima	Coefficiente de variação (CV)	Tamanho amostral
Leucócitos totais	GERAL	14570	11192	2500	5400	10000	22100	54700	77%	79
Leucócitos totais	Leucócitos normais	10627	3861	5500	7600	9750	14200	19000	36%	30
Leucócitos totais	Leucocitose	28092	8332	19600	22100	26250	32400	54700	30%	26
Leucócitos totais	Leucopenia	4426	820	2500	3800	4400	5000	5400	19%	23
Leucócitos totais	Soro amil. ≤5	10616	7598	2500	4950	7500	15000	28100	72%	56
Leucócitos totais	Soro amil. >5	24196	12771	4300	14200	24400	33000	54700	53%	23
Leucócitos totais	Normal	10627	3861	5500	7600	9750	14200	19000	36%	30
Leucócitos totais	Leucocitose inflamatória	32093	9417	19600	25000	32050	38500	54700	29%	14
Leucócitos totais	Leucocitose por estresse	23425	2972	19700	21050	22750	26250	28100	13%	12
Leucócitos totais	Leucopenia	4426	820	2500	3800	4400	5000	5400	19%	23
Soro amiloide	GERAL	15,00	22,66	5,00	5,00	5,00	9,70	107,30	151%	79
Soro amiloide	Leucócitos normais	17,27	28,00	5,00	5,00	5,00	5,00	107,30	162%	30
Soro amiloide	Leucocitose	20,70	23,78	5,00	5,00	7,50	28,00	92,30	115%	26
Soro amiloide	Leucopenia	5,59	2,51	5,00	5,00	5,00	5,00	17,00	45%	23
Soro amiloide	Soro amil. ≤5	5,00	0,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	0%	56
Soro amiloide	Soro amil. >5	39,35	30,76	5,30	15,80	28,00	66,70	107,30	78%	23
Soro amiloide	Normal	17,27	28,00	5,00	5,00	5,00	5,00	107,30	162%	30
Soro amiloide	Leucocitose inflamatória	34,16	25,78	5,30	15,80	26,30	44,70	92,30	75%	14
Soro amiloide	Leucocitose por estresse	5,00	0,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	0%	12
Soro amiloide	Leucopenia	5,59	2,51	5,00	5,00	5,00	5,00	17,00	45%	23
He	GERAL	7,62	1,68	3,10	6,83	7,81	8,82	10,46	22%	79

He	Leucócitos normais	7,55	1,68	3,10	6,68	7,80	8,80	10,40	22%	30
He	Leucocitose	6,90	1,79	3,10	5,84	7,40	8,12	10,45	26%	26
He	Leucopenia	8,54	1,08	6,62	7,76	8,80	9,10	10,46	13%	23
He	Soro amil. ≤5	7,85	1,77	3,10	6,86	8,24	9,10	10,46	23%	56
He	Soro amil. >5	7,07	1,30	3,60	6,68	7,53	7,87	8,80	18%	23
He	Normal	7,55	1,68	3,10	6,68	7,80	8,80	10,40	22%	30
He	Leucocitose inflamatória	6,82	1,54	3,60	5,94	7,43	7,87	8,34	23%	14
He	Leucocitose por estresse	7,00	2,10	3,10	5,63	7,21	8,40	10,45	30%	12
He	Leucopenia	8,54	1,08	6,62	7,76	8,80	9,10	10,46	13%	23
Hb	GERAL	11,93	2,46	5,80	10,40	12,40	14,00	16,60	21%	79
Hb	Leucócitos normais	12,03	2,62	5,80	10,30	12,30	14,10	16,20	22%	30
Hb	Leucocitose	10,85	2,36	5,80	9,40	11,25	12,50	14,30	22%	26
Hb	Leucopenia	13,00	1,85	9,60	11,30	13,00	14,40	16,60	14%	23
Hb	Soro amil. ≤5	12,30	2,51	5,80	10,75	12,85	14,10	16,60	20%	56
Hb	Soro amil. >5	11,01	2,10	6,40	10,20	11,30	12,40	15,10	19%	23
Hb	Normal	12,03	2,62	5,80	10,30	12,30	14,10	16,20	22%	30
Hb	Leucocitose inflamatória	10,68	2,16	6,40	10,00	10,70	12,40	14,00	20%	14
Hb	Leucocitose por estresse	11,06	2,66	5,80	8,75	11,80	12,85	14,30	24%	12
Hb	Leucopenia	13,00	1,85	9,60	11,30	13,00	14,40	16,60	14%	23
VG	GERAL	35,73	7,27	18,00	32,00	36,00	41,00	49,00	20%	79
VG	Leucócitos normais	35,60	7,31	18,00	32,00	36,50	41,00	47,00	21%	30
VG	Leucocitose	32,38	6,92	18,00	29,00	33,50	37,00	43,00	21%	26
VG	Leucopenia	39,70	5,75	30,00	35,00	39,00	45,00	49,00	14%	23
VG	Soro amil. ≤5	37,09	7,46	18,00	33,00	38,00	43,00	49,00	20%	56
VG	Soro amil. >5	32,43	5,68	20,00	29,00	33,00	36,00	43,00	18%	23
VG	Normal	35,60	7,31	18,00	32,00	36,50	41,00	47,00	21%	30
VG	Leucocitose inflamatória	31,50	5,75	20,00	29,00	33,00	36,00	40,00	18%	14
VG	Leucocitose por estresse	33,42	8,22	18,00	26,00	36,00	40,50	43,00	25%	12
VG	Leucopenia	39,70	5,75	30,00	35,00	39,00	45,00	49,00	14%	23
VCM	GERAL	47,01	5,78	16,39	43,76	47,20	50,06	58,06	12%	79
VCM	Leucócitos normais	47,67	4,84	34,43	45,10	47,28	50,06	58,06	10%	30
VCM	Leucocitose	47,84	5,15	39,94	43,32	47,49	52,33	58,06	11%	26
VCM	Leucopenia	45,21	7,26	16,39	43,08	47,12	48,34	53,57	16%	23
VCM	Soro amil. ≤5	47,83	4,43	39,18	45,05	47,31	50,77	58,06	9%	56
VCM	Soro amil. >5	45,02	7,97	16,39	42,03	47,01	49,66	55,56	18%	23
VCM	Normal	47,67	4,84	34,43	45,10	47,28	50,06	58,06	10%	30
VCM	Leucocitose inflamatória	47,04	5,13	39,94	42,42	47,49	50,51	55,56	11%	14
VCM	Leucocitose por estresse	48,78	5,24	41,15	45,30	48,50	52,52	58,06	11%	12

VCM	Leucopenia	45,21	7,26	16,39	43,08	47,12	48,34	53,57	16%	23
CHCM	GERAL	33,38	1,50	29,41	32,22	33,51	34,47	36,00	5%	79
CHCM	Leucócitos normais	33,72	1,53	29,41	32,73	34,24	34,78	36,00	5%	30
CHCM	Leucocitose	33,49	1,37	30,48	32,41	33,54	34,48	35,88	4%	26
CHCM	Leucopenia	32,80	1,50	30,00	31,14	33,33	33,95	35,00	5%	23
CHCM	Soro amil. ≤5	33,18	1,56	29,41	32,00	33,38	34,44	36,00	5%	56
CHCM	Soro amil. >5	33,86	1,27	30,48	33,06	34,00	35,00	35,88	4%	23
CHCM	Normal	33,72	1,53	29,41	32,73	34,24	34,78	36,00	5%	30
CHCM	Leucocitose inflamatória	33,78	1,46	30,48	32,73	34,12	34,59	35,88	4%	14
CHCM	Leucocitose por estresse	33,15	1,23	31,11	32,11	33,25	34,20	34,78	4%	12
CHCM	Leucopenia	32,80	1,50	30,00	31,14	33,33	33,95	35,00	5%	23
RDW	GERAL	16,47	3,75	13,50	14,90	15,70	16,80	45,00	23%	79
RDW	Leucócitos normais	15,76	1,87	13,50	14,60	15,55	16,30	23,30	12%	30
RDW	Leucocitose	16,27	2,19	13,50	15,00	15,70	16,50	24,30	13%	26
RDW	Leucopenia	17,63	6,13	14,30	15,50	16,00	17,00	45,00	35%	23
RDW	Soro amil. ≤5	16,45	4,14	13,50	14,85	15,80	16,70	45,00	25%	56
RDW	Soro amil. >5	16,53	2,62	13,50	15,30	15,70	17,20	24,30	16%	23
RDW	Normal	15,76	1,87	13,50	14,60	15,55	16,30	23,30	12%	30
RDW	Leucocitose inflamatória	16,45	2,65	13,50	15,30	15,70	17,20	24,30	16%	14
RDW	Leucocitose por estresse	16,05	1,59	14,40	14,95	15,85	16,30	19,30	10%	12
RDW	Leucopenia	17,63	6,13	14,30	15,50	16,00	17,00	45,00	35%	23
PT	GERAL	8,37	0,98	5,60	7,80	8,30	9,00	11,00	12%	79
PT	Leucócitos normais	8,39	1,17	5,60	7,80	8,35	9,00	11,00	14%	30
PT	Leucocitose	8,45	0,98	7,00	7,80	8,35	9,00	11,00	12%	26
PT	Leucopenia	8,26	0,70	6,50	7,80	8,30	8,80	9,50	8%	23
PT	Soro amil. ≤5	8,40	0,86	6,50	8,00	8,25	8,80	11,00	10%	56
PT	Soro amil. >5	8,31	1,24	5,60	7,50	8,50	9,00	11,00	15%	23
PT	Normal	8,39	1,17	5,60	7,80	8,35	9,00	11,00	14%	30
PT	Leucocitose inflamatória	8,34	1,11	7,00	7,50	8,25	9,00	11,00	13%	14
PT	Leucocitose por estresse	8,58	0,85	7,50	8,00	8,35	9,05	10,50	10%	12
PT	Leucopenia	8,26	0,70	6,50	7,80	8,30	8,80	9,50	8%	23
LEUC	GERAL	17928	12637	2500	5200	19700	27000	54700	70%	79
LEUC	Leucócitos normais	19664	11818	5500	9500	19350	27600	54700	60%	30
LEUC	Leucocitose	27908	7724	19700	22200	26250	32000	54700	28%	26
LEUC	Leucopenia	4383	792	2500	3800	4400	5000	5400	18%	23
LEUC	Soro amil. ≤5	14758	11729	2500	4900	8850	22200	54700	79%	56
LEUC	Soro amil. >5	25648	11591	4300	18200	26600	32400	54700	45%	23
LEUC	Normal	19664	11818	5500	9500	19350	27600	54700	60%	30

LEUC	Leucocitose inflamatória	31750	8533	20400	25000	31850	33900	54700	27%	14
LEUC	Leucocitose por estresse	23425	2972	19700	21050	22750	26250	28100	13%	12
LEUC	Leucopenia	4383	792	2500	3800	4400	5000	5400	18%	23
NEUT	GERAL	14162	10960	87	3362	13120	22680	36190	77%	79
NEUT	Leucócitos normais	15472	10336	1140	6450	14110	21546	36190	67%	30
NEUT	Leucocitose	22844	6881	8274	18216	22113	28991	36190	30%	26
NEUT	Leucopenia	2638	976	87	2100	2812	3362	4004	37%	23
NEUT	Soro amil. ≤5	10936	10000	87	2940	6387	19669	36190	91%	56
NEUT	Soro amil. >5	22018	9211	3655	15100	22908	29481	36190	42%	23
NEUT	Normal	15472	10336	1140	6450	14110	21546	36190	67%	30
NEUT	Leucocitose inflamatória	27180	5287	18156	22908	27616	29832	36190	19%	14
NEUT	Leucocitose por estresse	17786	4768	8274	14807	18943	20581	26133	27%	12
NEUT	Leucopenia	2638	976	87	2100	2812	3362	4004	37%	23
LINF	GERAL	2303	2262	230	976	1656	2552	10638	98%	79
LINF	Leucócitos normais	2547	2472	230	1150	1935	2660	10638	97%	30
LINF	Leucocitose	2815	2718	250	843	1856	3555	10638	97%	26
LINF	Leucopenia	1405	673	456	918	1450	1820	2728	48%	23
LINF	Soro amil. ≤5	2491	2376	456	1047	1672	2626	10638	95%	56
LINF	Soro amil. >5	1845	1927	230	559	1620	2196	9299	104%	23
LINF	Normal	2547	2472	230	1150	1935	2660	10638	97%	30
LINF	Leucocitose inflamatória	2191	2350	250	648	1638	2640	9299	107%	14
LINF	Leucocitose por estresse	3543	3032	594	1440	2301	5477	10638	86%	12
LINF	Leucopenia	1405	673	456	918	1450	1820	2728	48%	23
EOS	GERAL	630	855	0	182	324	552	4266	136%	72
EOS	Leucócitos normais	700	893	0	198	418	750	3588	128%	23
EOS	Leucocitose	913	1061	0	244	475	1356	4266	116%	26
EOS	Leucopenia	241	155	0	108	250	352	540	64%	23
EOS	Soro amil. ≤5	655	945	0	189	315	536	4266	144%	52
EOS	Soro amil. >5	565	572	0	52	324	1163	1641	101%	20
EOS	Normal	700	893	0	198	418	750	3588	128%	23
EOS	Leucocitose inflamatória	704	621	0	244	441	1280	1641	88%	14
EOS	Leucocitose por estresse	1156	1408	0	240	475	1547	4266	122%	12
EOS	Leucopenia	241	155	0	108	250	352	540	64%	23
MONO	GERAL	553	666	0	98	244	843	2926	120%	77
MONO	Leucócitos normais	698	693	0	214	441	1027	2926	99%	28
MONO	Leucocitose	804	735	0	222	741	1165	2926	91%	26
MONO	Leucopenia	94	89	0	35	82	144	350	95%	23
MONO	Soro amil. ≤5	495	668	0	76	216	770	2926	135%	54

MONO	Soro amil. >5	692	657	0	204	345	1170	2128	95%	23
MONO	Normal	698	693	0	214	441	1027	2926	99%	28
MONO	Leucocitose inflamatória	702	640	0	204	510	1170	1641	91%	14
MONO	Leucocitose por estresse	923	846	0	308	744	1135	2926	92%	12
MONO	Leucopenia	94	89	0	35	82	144	350	95%	23
PLT	GERAL	257	213	14	120	234	362	1620	83%	79
PLT	Leucócitos normais	227	120	30	132	241	353	470	53%	30
PLT	Leucocitose	276	324	30	92	203	356	1620	117%	26
PLT	Leucopenia	274	143	14	177	234	396	535	52%	23
PLT	Soro amil. ≤5	228	133	14	126	219	359	535	58%	56
PLT	Soro amil. >5	327	331	30	120	241	372	1620	101%	23
PLT	Normal	227	120	30	132	241	353	470	53%	30
PLT	Leucocitose inflamatória	372	408	80	120	236	372	1620	110%	14
PLT	Leucocitose por estresse	165	129	30	41	156	281	362	78%	12
PLT	Leucopenia	274	143	14	177	234	396	535	52%	23
PT SÉRICA	GERAL	6,75	1,04	5,10	6,10	6,60	7,18	9,98	15%	58
PT SÉRICA	Leucócitos normais	6,63	0,84	5,10	6,10	6,60	7,70	8,10	13%	19
PT SÉRICA	Leucocitose	6,99	1,32	5,30	6,05	6,60	7,90	9,98	19%	20
PT SÉRICA	Leucopenia	6,60	0,86	5,20	5,90	6,60	7,00	8,90	13%	19
PT SÉRICA	Soro amil. ≤5	6,75	0,96	5,20	6,10	6,60	7,30	9,50	14%	43
PT SÉRICA	Soro amil. >5	6,73	1,26	5,10	5,80	6,60	7,18	9,98	19%	15
PT SÉRICA	Normal	6,63	0,84	5,10	6,10	6,60	7,70	8,10	13%	19
PT SÉRICA	Leucocitose inflamatória	6,81	1,43	5,30	5,80	6,45	7,18	9,98	21%	10
PT SÉRICA	Leucocitose por estresse	7,18	1,25	5,90	6,20	6,65	8,30	9,50	17%	10
PT SÉRICA	Leucopenia	6,60	0,86	5,20	5,90	6,60	7,00	8,90	13%	19
ALB	GERAL	3,26	0,45	2,50	2,90	3,30	3,50	5,28	14%	69
ALB	Leucócitos normais	3,29	0,35	2,50	3,00	3,30	3,50	4,10	11%	26
ALB	Leucocitose	3,20	0,59	2,50	2,80	3,10	3,50	5,28	18%	23
ALB	Leucopenia	3,32	0,36	2,50	3,15	3,30	3,50	3,90	11%	20
ALB	Soro amil. ≤5	3,31	0,37	2,50	3,10	3,35	3,50	4,10	11%	50
ALB	Soro amil. >5	3,14	0,59	2,50	2,70	3,00	3,30	5,28	19%	19
ALB	Normal	3,29	0,35	2,50	3,00	3,30	3,50	4,10	11%	26
ALB	Leucocitose inflamatória	3,23	0,71	2,70	2,80	3,00	3,36	5,28	22%	12
ALB	Leucocitose por estresse	3,16	0,46	2,50	2,80	3,20	3,60	3,80	15%	11
ALB	Leucopenia	3,32	0,36	2,50	3,15	3,30	3,50	3,90	11%	20
GLOB	GERAL	3,08	0,90	1,30	2,80	2,90	3,30	6,56	29%	29
GLOB	Leucócitos normais	3,02	0,56	2,40	2,75	2,80	3,15	4,30	19%	11
GLOB	Leucocitose	3,70	1,14	2,80	3,10	3,30	3,80	6,56	31%	9

GLOB	Leucopenia	2,56	0,65	1,30	2,00	2,80	2,90	3,30	26%	9
GLOB	Soro amil. ≤5	2,86	0,57	1,30	2,75	2,85	3,20	3,80	20%	22
GLOB	Soro amil. >5	3,78	1,40	2,40	2,80	3,60	4,30	6,56	37%	7
GLOB	Normal	3,02	0,56	2,40	2,75	2,80	3,15	4,30	19%	11
GLOB	Leucocitose inflamatória	3,95	1,53	2,80	2,90	3,60	3,90	6,56	39%	5
GLOB	Leucocitose por estresse	3,38	0,30	3,10	3,20	3,30	3,55	3,80	9%	4
GLOB	Leucopenia	2,56	0,65	1,30	2,00	2,80	2,90	3,30	26%	9
AST	GERAL	54,2	63,7	10,0	24,6	29,9	56,4	292,4	117%	21
AST	Leucócitos normais	43,1	36,4	16,6	25,7	28,8	45,8	127,9	84%	8
AST	Leucocitose	66,0	100,6	10,0	22,8	28,3	50,4	292,4	152%	7
AST	Leucopenia	55,3	42,8	16,5	24,6	43,8	70,7	132,1	77%	6
AST	Soro amil. ≤5	32,3	14,7	16,5	24,3	28,0	33,0	70,7	45%	16
AST	Soro amil. >5	124,2	106,9	10,0	58,6	127,9	132,1	292,4	86%	5
AST	Normal	43,1	36,4	16,6	25,7	28,8	45,8	127,9	84%	8
AST	Leucocitose inflamatória	151,2	199,7	10,0	10,0	151,2	292,4	292,4	132%	2
AST	Leucocitose por estresse	31,9	11,0	22,8	25,0	28,3	33,0	50,4	35%	5
AST	Leucopenia	55,3	42,8	16,5	24,6	43,8	70,7	132,1	77%	6
CREAT	GERAL	1,81	1,57	0,70	1,00	1,40	1,70	10,40	87%	75
CREAT	Leucócitos normais	2,04	2,10	0,70	1,20	1,40	1,62	10,40	103%	27
CREAT	Leucocitose	1,67	1,36	0,70	0,90	1,20	1,70	5,40	82%	25
CREAT	Leucopenia	1,68	1,01	0,80	1,00	1,50	2,00	5,40	60%	23
CREAT	Soro amil. ≤5	1,67	1,16	0,70	1,10	1,40	1,70	7,20	69%	55
CREAT	Soro amil. >5	2,18	2,37	0,70	0,90	1,30	1,83	10,40	109%	20
CREAT	Normal	2,04	2,10	0,70	1,20	1,40	1,62	10,40	103%	27
CREAT	Leucocitose inflamatória	1,70	1,52	0,70	0,90	1,10	1,40	5,40	89%	13
CREAT	Leucocitose por estresse	1,63	1,23	0,70	0,90	1,25	1,70	5,20	76%	12
CREAT	Leucopenia	1,68	1,01	0,80	1,00	1,50	2,00	5,40	60%	23
URE	GERAL	76,5	63,1	29,5	43,8	55,3	71,4	375,4	82%	71
URE	Leucócitos normais	84,8	76,3	32,7	51,6	57,4	68,8	375,4	90%	25
URE	Leucocitose	82,9	72,9	29,5	43,0	53,9	85,4	283,0	88%	23
URE	Leucopenia	61,2	25,2	33,4	43,8	54,1	66,4	136,0	41%	23
URE	Soro amil. ≤5	66,3	40,5	30,9	45,8	55,5	68,4	276,1	61%	52
URE	Soro amil. >5	104,6	98,5	29,5	43,2	53,9	187,0	375,4	94%	19
URE	Normal	84,8	76,3	32,7	51,6	57,4	68,8	375,4	90%	25
URE	Leucocitose inflamatória	86,7	79,5	29,5	40,7	51,8	111,9	283,0	92%	12
URE	Leucocitose por estresse	78,6	68,6	30,9	43,0	61,0	85,4	276,1	87%	11
URE	Leucopenia	61,2	25,2	33,4	43,8	54,1	66,4	136,0	41%	23
ALT	GERAL	93,4	195,4	14,4	31,9	46,5	62,4	1403,1	209%	60

ALT	Leucócitos normais	71,5	71,5	23,4	34,7	47,8	62,0	328,5	100%	22
ALT	Leucocitose	128,2	304,0	14,6	30,9	49,1	82,5	1403,1	237%	20
ALT	Leucopenia	81,6	143,9	14,4	30,3	38,3	48,2	640,1	176%	18
ALT	Soro amil. ≤5	56,9	46,8	14,4	30,4	40,5	60,2	220,9	82%	44
ALT	Soro amil. >5	193,8	359,5	14,6	39,3	54,1	124,1	1403,1	185%	16
ALT	Normal	71,5	71,5	23,4	34,7	47,8	62,0	328,5	100%	22
ALT	Leucocitose inflamatória	197,4	425,1	14,6	47,9	58,1	118,0	1403,1	215%	10
ALT	Leucocitose por estresse	59,0	61,5	20,0	27,5	34,7	50,7	220,9	104%	10
ALT	Leucopenia	81,6	143,9	14,4	30,3	38,3	48,2	640,1	176%	18
FA	GERAL	51,0	31,6	21,5	33,1	40,6	55,7	186,7	62%	60
FA	Leucócitos normais	46,9	19,2	26,7	33,5	40,0	55,2	97,3	41%	22
FA	Leucocitose	66,1	46,9	26,3	35,6	46,3	83,2	186,7	71%	20
FA	Leucopenia	39,1	11,0	21,5	33,0	37,3	45,0	62,6	28%	18
FA	Soro amil. ≤5	45,9	18,6	21,5	33,3	40,3	53,1	97,3	41%	44
FA	Soro amil. >5	64,9	51,6	26,3	32,3	41,9	72,3	186,7	80%	16
FA	Normal	46,9	19,2	26,7	33,5	40,0	55,2	97,3	41%	22
FA	Leucocitose inflamatória	78,5	61,6	26,3	33,8	41,9	147,0	186,7	78%	10
FA	Leucocitose por estresse	53,8	22,4	27,2	40,7	46,6	70,8	96,2	42%	10
FA	Leucopenia	39,1	11,0	21,5	33,0	37,3	45,0	62,6	28%	18
GGT	GERAL	2,16	0,82	1,20	1,80	2,00	2,30	6,90	38%	60
GGT	Leucócitos normais	2,04	0,24	1,40	1,90	2,00	2,20	2,40	12%	21
GGT	Leucocitose	2,54	1,28	1,40	1,90	2,20	2,50	6,90	50%	20
GGT	Leucopenia	1,88	0,40	1,20	1,60	1,90	2,10	2,70	21%	19
GGT	Soro amil. ≤5	1,95	0,44	1,20	1,70	1,90	2,20	4,00	23%	44
GGT	Soro amil. >5	2,73	1,27	1,90	2,10	2,35	2,55	6,90	47%	16
GGT	Normal	2,04	0,24	1,40	1,90	2,00	2,20	2,40	12%	21
GGT	Leucocitose inflamatória	3,01	1,55	2,10	2,20	2,45	2,50	6,90	52%	10
GGT	Leucocitose por estresse	2,07	0,75	1,40	1,60	1,90	2,20	4,00	36%	10
GGT	Leucopenia	1,88	0,40	1,20	1,60	1,90	2,10	2,70	21%	19
FOSF	GERAL	6,06	4,14	2,70	3,65	4,55	6,20	19,80	68%	24
FOSF	Leucócitos normais	6,31	4,75	2,70	3,90	4,70	7,60	19,80	75%	11
FOSF	Leucocitose	6,17	2,69	4,20	4,40	5,20	6,20	12,00	44%	7
FOSF	Leucopenia	5,47	4,93	3,12	3,30	3,35	4,20	15,50	90%	6
FOSF	Soro amil. ≤5	5,59	3,19	2,70	3,90	4,40	6,20	15,50	57%	19
FOSF	Soro amil. >5	7,86	6,90	3,30	3,40	5,20	7,60	19,80	88%	5
FOSF	Normal	6,31	4,75	2,70	3,90	4,70	7,60	19,80	75%	11
FOSF	Leucocitose inflamatória	5,20		5,20	5,20	5,20	5,20	5,20		1
FOSF	Leucocitose por estresse	6,33	2,91	4,20	4,40	5,60	6,20	12,00	46%	6

CAPÍTULO 3

Trabalho Científico (Conforme as normas da Revista Acta Scientiae Veterinariae)

RESEARCH ARTICLE

Evaluation of Serum Amyloid A (SAA) in Felines With Leukocyte Changes

Amanda Avelar Parreira ^{1*}, Paulo Marcusso¹

¹Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia (FMVZ, UNESP), Botucatu, SP, Brasil,

Correspondence: Amanda Avelar Parreira, Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail:
amanda.avelar@unesp.br

ABSTRACT

Background: Acute phase proteins (APPs) are produced in the liver in response to proinflammatory cytokines. The use of these proteins for diagnostic purposes in animals has increased over the past decade. When tissue injury occurs, an acute phase inflammatory response is generated, resulting in changes in the concentrations of total proteins and APPs. Some of these proteins decrease, such as APP-negative proteins (albumin and transferrin), and others increase, such as APP-positive proteins (SAA, CRP, haptoglobin, AGP, ceruloplasmin, and fibrinogen). SAA increases between 24 and 48 hours after stimulation and remains elevated during inflammation, being an important prognostic marker. It can be used to monitor the response to treatment of several diseases, including pancreatitis, feline infectious peritonitis, renal disease, and diabetes mellitus.

Materials, Methods & Results: The study, approved by the CEUA of UNESP, involved 79 cats treated at the Veterinary Hospital of the same university. The animals were divided into four groups: G1 (control), with 30 cats without clinical signs of disease or inflammation; G2 (stress leukocytosis), with 9 cats with leukocytosis without evidence of disease; G3 (inflammatory leukocytosis), with 15 cats with leukocytosis and clinical signs of inflammation; and G4 (leukopenia), with 26 cats with leukopenia and no clinical signs of disease. All animals were clinically evaluated and underwent hematological and biochemical tests. The SAA dosage was performed using the Fluorescent Immunoassay (FIA) method with the VCHECK V200 equipment. Blood was collected by puncture of the cephalic vein, and the tests were performed at the Veterinary Clinical Laboratory of FMVZ/UNESP. Patients in G3 had high mean SAA, which was expected, since this protein is a positive acute phase protein associated with inflammatory processes and is an important diagnostic and prognostic marker. G1 also showed high mean SAA, with 20% of patients presenting elevated levels, indicating the onset of an inflammatory process not yet identified in the blood count. In addition to the increase in SAA, patients in G3 had lower levels of red blood cells, hemoglobin, and hematocrit, probably due to inflammation, which affects iron metabolism and red blood cell production. The assessment of SAA revealed differences in globulins, both overall and between groups. In G3, elevated SAA values were associated with the ongoing inflammatory process. On the other hand, the maintenance of SAA within the reference values in patients in G1 may indicate that the protein returned to normal levels after the resolution of symptoms prior to collection. In the differential leukocyte count, segmented neutrophils (NEUT) were an important marker to distinguish cats from groups G1 and G3 or G4.

Discussion: G3 presented a high mean SAA, as expected, due to its role as a marker of inflammatory processes. G1 also showed a high mean SAA, with 20% of the cats presenting elevated levels of this protein. Cats in G3 had reduced levels of red blood cells, hemoglobin and hematocrit. Protein analysis revealed differences in globulins, with higher values in G3. In addition, there were significant differences in albumin concentrations between G1 and G3, and G3 and G4. The only significant biochemical difference was observed in gamma-glutamyltransferase (GGT), which varied between groups.

Keywords: inflammation, cats, serum biochemistry, hematology, proteins

1. INTRODUCTION

Acute phase proteins (APPs) are proteins produced in the liver that increase or decrease in response to inflammation [1]. They are part of the innate immune system, and their quantification is crucial for the diagnosis, monitoring, and prognosis of inflammatory diseases. APPs are divided into two categories: negative APPs, such as albumin, which decrease in the acute phase, and positive APPs, such as C-reactive protein and serum amyloid A (SAA), which increase in acute inflammation [4]. Innate immune response cells, such as macrophages and neutrophils, release pro-inflammatory cytokines, such as IL-6, IL-1 and TNF- α , which play an important role in inducing APP synthesis [8].

The leukogram helps to identify and characterize inflammation, but does not confirm infections, although immature neutrophils and toxicity may suggest infectious conditions [13]. More sensitive tests, such as PCR in dogs and SAA in cats, are more accurate in detecting inflammatory processes. SAA, especially in felines, increases early in inflammation and infections, in addition to other conditions of tissue damage [4].

Considered more sensitive than PCR in cats, SAA increases substantially in the early stages of diseases, and is a crucial biomarker for monitoring the course and treatment of diseases in this specie [14]. The objective of this study was to evaluate SAA concentrations in cats with different clinical conditions and leukocyte counts, using biochemical tests, SAA dosage and blood count.

2. MATERIAL AND METHODS

Animals:

Seventy-nine patients treated at the Veterinary Hospital of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ) of the São Paulo State University “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu Campus, São Paulo were selected.

Experimental setup:

The study animals were divided into the following groups: Group 1 (G1 - control), consisted of patients with leukocytes within the reference values for the feline species (VR: 5,000-19,000/uL; [9]), without clinical signs of disease or inflammation, composed of 30 cats aged between 5 months and 14 years. Group 2 (G2 - stress leukocytosis) consisted of 9 patients aged between 3 months and 17 years, presenting leukocytosis, but without clinical evidence of disease or inflammation. Group 3 (G3 - inflammatory leukocytosis), characterized by patients with leukocytosis and clinical signs of disease and/or inflammation, such as apathy, anorexia, vomiting, diarrhea, dyspnea, tachypnea, tachycardia and/or abdominal pain, composed of 15 cats aged between 1 and 18 years. Group 4 (G4 - leukopenia) consisted of 26 animals, aged 2.5 months to 16 years, with leukopenia, without clinical signs of disease or inflammation. Animals that did not present clear clinical signs or that did not allow determination of whether the leukocytosis was inflammatory or due to stress, based on the history and other laboratory findings, were excluded from the study.

Sample evaluation:

For the hematological evaluation, 0.5 mL blood was collected from the cephalic vein of the cats, using an appropriate needle and syringe, and transferred to a tube with EDTA-K3 to perform the blood count. The blood count consisted of erythrogram, leukogram and thrombogram, and was analyzed in an automatic hematology analyzer. For the biochemical analysis, approximately 1 mL of blood was collected, which was centrifuged to obtain the serum. Parameters such as total proteins, albumin, globulin, urea, creatinine, phosphorus, alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP) and gamma glutamyltransferase (GGT) were analyzed using a semi-automatic spectrophotometer. SAA was measured with the VCHECK V200 equipment, by Fluorescent Immunoassay, with capacity to detect concentrations of 5-200 µg/mL. The result was read five minutes after the sample was inserted into the device.

Statistical analysis:

A descriptive analysis was performed to evaluate the numerical and categorical variables, calculating indexes such as mean, median, standard deviation, coefficient of variation and quartiles. The difference between the four groups of animals (normal leukocytes, stress leukocytosis, inflammatory leukocytosis and leukopenia) was tested using non-parametric methods, given that the distributions of the variables varied. The Kruskal-Wallis test was applied, and p-values less than 0.05 indicated that at least one pair of groups presented significant differences. The variables evaluated by the Kruskal-Wallis test included Serum Amyloid A (SAA), red blood cells, hemoglobin, packed cell volume (GBV), total leukocytes, neutrophils, total proteins, albumin, gamma glutamyltransferase (GGT), alkaline phosphatase (AP) and alanine aminotransferase (ALT). All analyses were conducted using R software version 4.4.1 (R Core Team, 2024).

3. RESULTS

Table 1 presents the descriptive statistics of the study variables, analyzed separately for groups G1 (control), G2 (stress leukocytosis), G3 (inflammatory leukocytosis) and G4 (leukopenia). The results showed that patients in G3 had the highest mean serum amyloid A (SAA), with 20% of patients in G1 also exhibiting elevated levels of this protein. In addition, G3 had higher mean levels of ALT, GGT, alkaline phosphatase and albumin compared to the other groups.

Total leukocyte count was able to differentiate cats between groups, except in the comparison between inflammation (G3) and stress (G2). Globulin analysis revealed significant differences between groups, especially between G1 and G3, G3 and G2, and G3 and G4, with G3 showing higher levels of globulins. In the evaluation of hematologic parameters (Fig. 2), a tendency toward anemia was observed in G3 patients, indicated by reduced packed cell volume (GV) and hemoglobin (HB), with the most evident difference being between G2 (stress leukocytosis) and G4 (leukopenia). The segmented neutrophil count was effective in distinguishing cats in G1 (control) from those in G3 (inflammatory leukocytosis) and G4 (leukopenia), but was not able to differentiate G1 from G2 (stress leukocytosis).

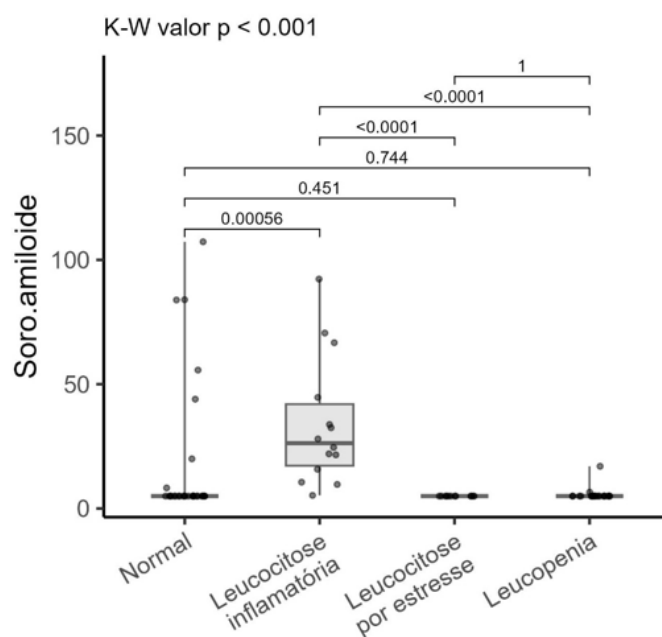
Protein analysis (Fig. 3) showed similar serum concentrations of total proteins among all groups, but with significant differences in albumin concentrations between G1 and G3, and G3 and G4. As for globulins, the highest concentrations were observed in G3, with notable

137 differences between the groups. Finally, the analysis of biochemical parameters revealed a
 138 statistical difference only for gamma-glutamyltransferase (GGT), being the only biochemical
 139 parameter to present significant variation between the groups (Fig. 4).

140 **Table 1:** Mean and standard deviation of the blood count and biochemistry results of the 4
 141 groups evaluated.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
SAA (µg/mL)	24,9 ± 34,4	5,3 ± 5,0	32,5 ± 27,2	6,6 ± 3,9
Leucócitos totais (10³/uL)	10,63 ± 3,79	25,78 ± 6,21	29,13 ± 8,98	4,35 ± 0,84
Hemácias (10⁶/uL)	8,25 ± 1,42	6,32 ± 1,97	6,97 ± 1,80	8,48 ± 1,98
Hemoglobina (g/dL)	13,04 ± 2,29	10,36 ± 2,68	10,97 ± 2,43	12,84 ± 1,96
Volume Globular (%)	38,47 ± 6,33	31,5 ± 8,41	32,7 ± 6,92	39,07 ± 6,03
VCM (fl)	46,86 ± 4,09	50,79 ± 4,85	46,79 ± 5,01	45,00 ± 6,91
CHCM (g/dL)	33,84 ± 1,45	32,99 ± 1,21	33,52 ± 1,41	32,89 ± 1,56
RDW (%)	15,90 ± 1,95	15,94 ± 1,4	16,48 ± 2,69	17,67 ± 5,77
Plaquetas (10³/uL)	265,03 ± 117,22	207,13 ± 128,4	304,13 ± 393,59	275,12 ± 138,41
Neutrófilos (10³/uL)	7,28 ± 3,90	22,25 ± 6,09	23,19 ± 8,01	2,60 ± 0,96
Linfócitos (10³/uL)	2,63 ± 1,63	1,42 ± 0,66	3,36 ± 3,32	1,38 ± 0,67
Monócitos (10³/uL)	0,30 ± 0,27	1,12 ± 0,97	0,73 ± 0,59	0,09 ± 0,08
Eosinófilos (10³/uL)	0,38 ± 0,53	0,96 ± 1,17	0,96 ± 1,10	0,23 ± 0,16
Basófilos (10³/uL)	0	0	0	0,002 ± 0,01
Ureia (UI/L)	85,3 ± 77,63	90,4 ± 92,88	89,05 ± 71,81	65,17 ± 33,15
Creatinina (mg/dL)	3,2 ± 2,13	1,57 ± 1,62	1,84 ± 1,39	1,64 ± 0,96
Proteína Sérica (g/dL)	5,95 ± 0,85	7,77 ± 1,33	5,12 ± 2,17	4,41 ± 1,41
Albumina (g/dL)	3,16 ± 0,33	3,3 ± 0,53	4,71 ± 1,97	5,43 ± 2,04
ALT (UI/L)	43,66 ± 72,23	43,8 ± 29,65	170,76 ± 389,58	83,50 ± 133,25
GGT (UI/L)	1,88 ± 0,23	1,8 ± 0,25	2,8 ± 1,48	1,91 ± 0,41
FA (UI/L)	50,39 ± 19,13	51,36 ± 21,94	73,02 ± 57,19	38,89 ± 10,79

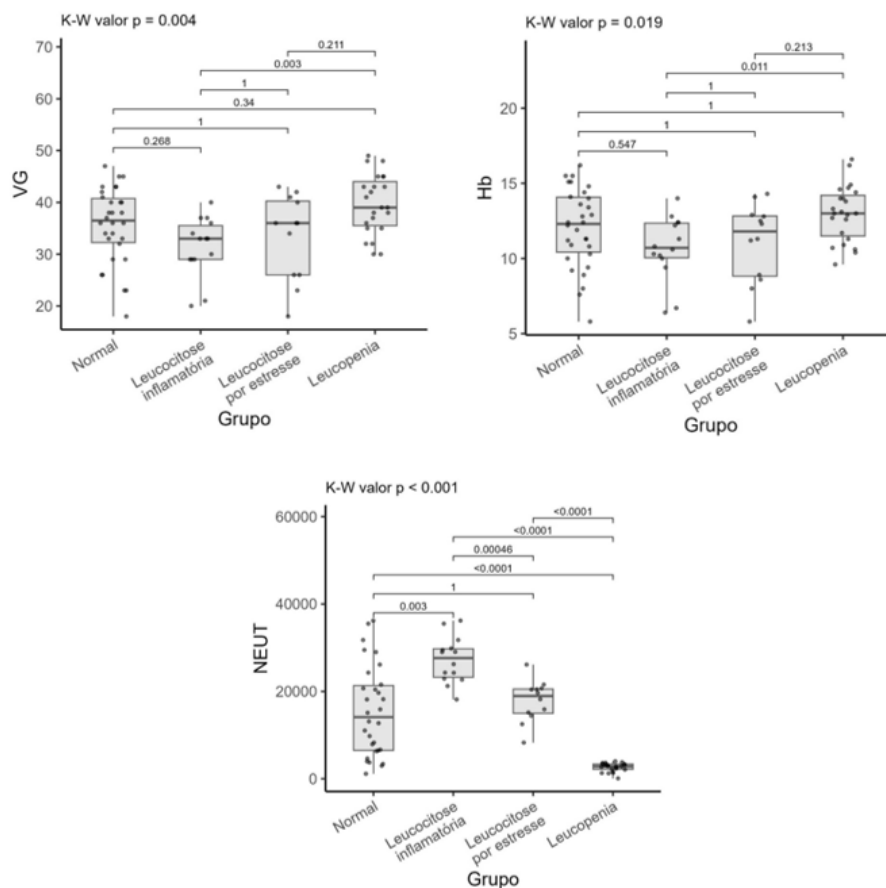
142



143

144 SAA = serum amyloid A; K-W = Kruskal Wallis; p = significance value. The boxplots present
 145 five measurements: minimum, 1st quartile, median, 3rd quartile and maximum. The p values
 146 of the multiple comparison tests are found by connecting the pairs.

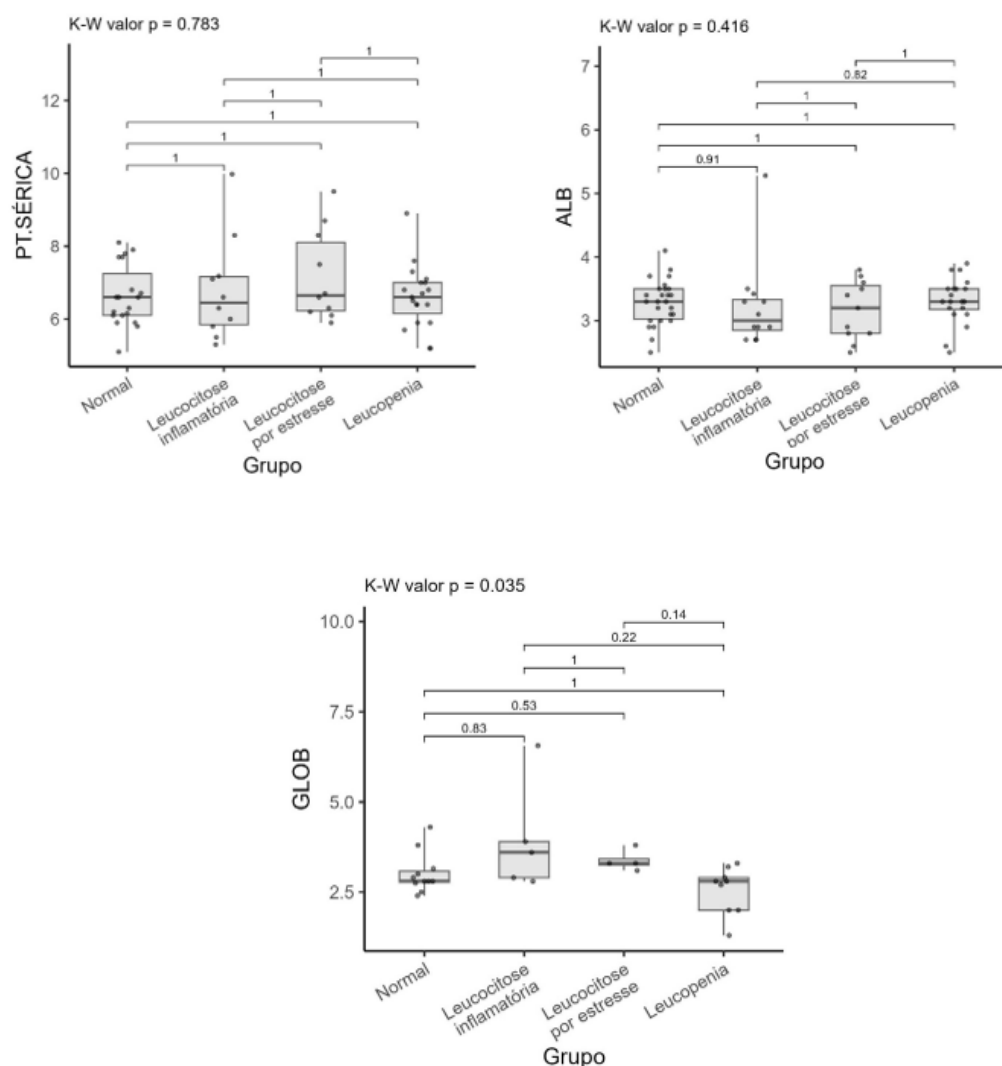
147 **Figure 1:** Graphical presentation of SAA analyzed in cats with different leukometry
 148 classifications.



149

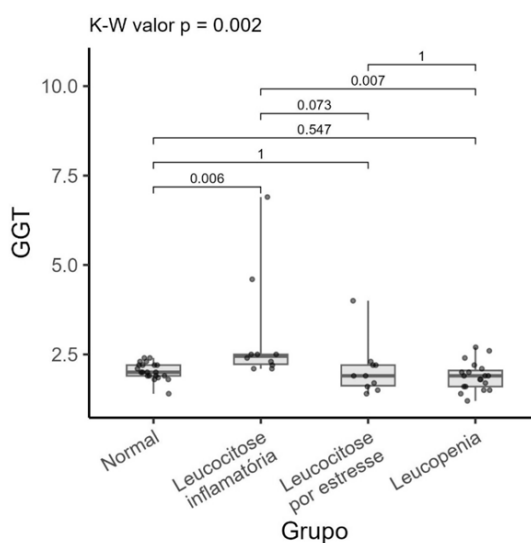
150 VG = packed cell volume (%); HB = hemoglobin (g/dL); NEUT = segmented neutrophils (/uL);
 151 K-W = Kruskal Wallis; p = significance value. Boxplots show five measures, namely:
 152 minimum, 1st quartile, median, 3rd quartile and maximum. P-values for multiple comparison
 153 tests are found by connecting pairs.

154 **Figure 2:** Boxplot table showing the main analytes that demonstrated statistical difference in
 155 hematology between the groups of cats separated according to the interpretation of leukometry.



PT= total protein; ALB= serum albumin; GLOB= globulins (calculated by the difference between PT and ALB); K-W= Kruskal Wallis; p= significance value. The boxplots present five measurements, namely: minimum, 1st quartile, median, 3rd quartile and maximum. The p-values of the multiple comparison tests are found by connecting the pairs.

Figure 3: Graphical presentation of total proteins and fractions analyzed in cats with different leukometry classifications.



GGT= gamma glutamyltransferase; FA= alkaline phosphatase; K-W= Kruskal Wallis; p = significance value. The boxplots show five measurements: minimum, 1st quartile, median, 3rd quartile and maximum. The p -values of the multiple comparison tests are found by connecting the pairs.

Figure 4: Serum activities (IU/L) of gamma glutamyltransferase (GGT) and alkaline phosphatase (AP) of cats with different leukometry interpretations.

4. DISCUSSION

The high levels of SAA in the G3 group may be related to the inflammatory process, but normalization of its values before collection may occur after resolution of symptoms. SAA is an important prognostic marker for several feline diseases. The tendency towards anemia in G3 is explained by the increase in inflammatory cytokines, which stimulate the production of hepcidin. Hepcidin reduces the availability of iron for red blood cell production, contributing to anemia [5]. IL-6, IL-1, and TNF- α also affect red blood cell production and bone marrow response [2]. The acute phase of inflammation leads to a reduction in transferrin and an increase in ferritin, limiting the availability of iron for bacteria. Proteins such as hepcidin, ferritin, and haptoglobin help regulate iron and protect against damage caused by excess iron [6].

Total leukocyte counts were able to differentiate between groups of cats, except in the comparison between inflammation and stress. Leukocytosis in felines can occur in response to inflammation as well as to stress, excitement, or fear, which makes it difficult to distinguish these conditions by total leukocyte count alone. This phenomenon is due to the rapid release of

neutrophils from the “marginal pool” into the circulation, mediated by cortisol and IL-1. In cats, the ratio of circulating to marginal leukocytes is approximately 1:3, while in other species it is 1:1. This makes the inflammatory response of cats somewhat different. In addition, the activation of myelopoiesis, stimulated by cytokines such as IL-1 and TNF- α , accelerates the maturation of neutrophils [7]. Therefore, leukocytosis observed in cats with inflammation may be confused with stress, requiring a more complete analysis based on other clinical signs.

The high SAA values observed in G3 may be related to the inflammatory process, while the maintenance of normal SAA levels in some patients in the G3 group may indicate that the protein returned to its reference levels after the resolution of symptoms, before the time of collection, which was not standardized. In cases of pancreatitis in cats, there was a rapid increase in SAA soon after the onset of symptoms, while the leukocyte count remained normal. Acute phase proteins, such as SAA, increase rapidly after the onset of inflammation, while the leukocyte response, which depends on the production of new cells by the bone marrow, may take longer to manifest [3].

The higher concentrations of globulins observed in G3 are consistent with the increase in these proteins in inflammatory processes, together with the reduction in albumin. The hyperglobulinemia observed in some patients may be due to hemoconcentration, chronic inflammation, infectious diseases or lymphoid neoplasms. Globulin levels are measured by subtracting albumin from total protein, and errors in this process may affect the results. To identify the cause of hyperglobulinemia, electrophoresis is necessary [11]. Hemoconcentration may also be associated with hyperalbuminemia, which may have caused a false increase in albumin levels in the patients evaluated. During inflammatory processes, a reduction in albumin levels and an increase in globulins are common. The decrease in albumin synthesis is seen as a strategy of the organism to prioritize the production of positive acute phase proteins, such as SAA and globulins [3]. These results are consistent with the findings of the analysis, which demonstrated statistical differences in the concentrations of these proteins between the groups evaluated.

When analyzing the parameters of the biochemical profile, it was observed that only GGT (gamma-glutamyltransferase) showed a statistically significant difference. GGT is an enzyme found in various tissues, with a higher concentration in the pancreas, liver, and kidneys. Its increase may be related to conditions such as cholestasis, biliary hyperplasia, or the use of

medications, such as corticosteroids and anticonvulsants. Although GGT is more sensitive in cats, it is less specific, which may be a limitation in the interpretation of the results [12].

The absence of statistical difference in the other liver enzymes suggests that the increase in GGT may be influenced by pre-analytical factors, such as lipemia and hemolysis. These factors may affect the accuracy of the results, since pre-analytical errors can alter enzymatic activity. It is important to consider the time between sample collection and analysis, since enzymes generally remain stable for up to 24 hours in refrigerated serum. Furthermore, lipemia and hemolysis in vitro can interfere with analyses, especially in spectrophotometric tests, and hemolysis can also increase enzymatic activity due to the release of enzymes from erythrocytes [11].

5. CONCLUSION

In conclusion, the determination of Serum SAA concentration was useful in detecting the inflammatory process in cats, being able to differentiate inflammatory leukocytosis from stress leukocytosis. Increased SAA was observed in 20% of patients without evident hematological and clinical alterations, suggesting the onset of an asymptomatic inflammatory process, highlighting its role as an early diagnostic marker. Increased SAA correlated positively with anemia, inflammatory leukocytosis, hypoalbuminemia and hyperglobulinemia.

MANUFACTURERS

¹LABQUEST®. São-Paulo, Brasil.

²LABTEST®. Lagoa Santa, Brasil.

³ECO Diagnóstico Veterinário. Nova Lima, Brasil.

⁴Horiba® Medical. Jundiaí, Brasil.

Funding

Not applicable.

Acknowledgements

Not applicable.

Ethical approval

The research was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (FMVZ) of the São Paulo State University “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), Botucatu Campus, São Paulo. The corresponding protocol is number 000.229.

Declaration of interest

The authors of this study claim not to have any financial ties or affiliations with organizations or entities that have an interest or financial competition in relation to the content presented in the article.

REFERENCES

- 1 Carretón E., Cerón J. J., Martínez-Subiela S., Tvarijonavičiūtė A., Caro-Vadillo A. & Montoya-Alonso J. A.** 2017. Acute phase proteins and markers of oxidative stress to assess the severity of the pulmonary hypertension in heartworm-infected dogs. *Parasit Vectors*. 10 (Suppl 2): 477. DOI: 10.1186/s13071-017-2426-8.
- 2 Chikazawa, S. & Dunning, M. D..** 2016. A review of anemia of inflammatory disease in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*. 57(7): 348-53. DOI: 10.1111/jsap.12498
- 3 Cray C., Zaias, J. & Altman, N.H..** 2009. Acute phase response in animals: a review. *Comp Med*. 59(6):517-26. PMID: 20034426; PMCID: PMC2798837.
- 4 Hazuchova K., Held S. & Neiger R.** 2017. Usefulness of acute phase proteins in differentiating between feline infectious peritonitis and other diseases in cats with body cavity effusions. *J Feline Med Surg*. 19(8): 809-16. DOI: 10.1177/1098612X16658925.
- 5 Hunt, A. & Jugan., M. C..** 2021. Anemia, iron deficiency, and cobalamin deficiency in cats with chronic gastrointestinal disease. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*. 35(1):172-178. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.15962>.
- 6 Mantovani A. & Garlanda C.** 2023. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. *N Engl J Med*. 388(5): 439-452. DOI: 10.1056/nejmra2206346.
- 7 Paltrinieri S..** 2007. The feline acute phase reaction. *Vet J.* 2007 Aug 7. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.06.005.
- 8 Rossi G.** 2023. Acute phase proteins in cats: Diagnostic and prognostic role, future directions, and analytical challenges. *Vet Clin Pathol*. 52(Suppl 1):37-49. DOI: 10.1111/vcp.13238.

- 270
- 271 **9 Stockham S. & Scott M..** 2008. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2. ed.
- 272 Hoboken: John Wiley & Sons, In.
- 273
- 274 **10 Stockham S. & Scott M..** 2022. Proteins. In: Friedrichs, K. R., Scott, M. A. & Stockham,
- 275 S. L. **(Eds)**. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 3. ed. Hoboken: John Wiley &
- 276 Sons, Inc. pp-486-508.
- 277
- 278 **11 Thrall, M. A.** 2016. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. In: Perspectives in
- 279 laboratory Data interpretation and disease diagnostic. Weiser, G., Allison, R. W. **(Eds)**. 2. ed.
- 280 Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. pp. 46-48.
- 281
- 282 **12 Thrall, M. A.** 2022. *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology*. In:
- 283 Laboratory Evaluation of the Liver. Allison, R. W. **(Eds)**. 3. ed. Wiley-Blackwell, Inc. pp. 433-
- 284 434.
- 285
- 286 **13. Tvedten H. W., Raskin R. E.** 2011. Leukocyte disorders. In: *Small animal clinical*
- 287 *diagnosis by laboratory methods*. 4. ed. **St. Louis: Elsevier**. p. 63-91.
- 288
- 289 **14 Yuki M., Aoyama R., Nakagawa M., Hirano T., Naitoh E. & Kainuma D.** 2020. A
- 290 clinical investigation on serum amyloid A concentration in client-owned healthy and diseased
- 291 cats in a primary care animal hospital. *Vet Sci*. 7(2): 45. DOI: 10.3390/vetsci7020045.