

VARIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DO DIÂMETRO ERITROCITÁRIO E DO VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO EM CÃES ANÊMICOS

RESUMO

A anisocitose é um achado hematológico que rotineiramente é avaliado a partir do volume corpuscular médio (VCM) e da avaliação da morfologia eritrocitária em esfregaços sanguíneos. No presente estudo foi testada a hipótese de que o coeficiente de variação da distribuição do diâmetro eritrocitário (RDW - *Red Cell Distribution Width*) é um parâmetro hematológico mais sensível na avaliação da anisocitose, considerando-se diferentes graus de anemia e reticulocitose em cães. Foram analisados hemogramas de 102 cães anêmicos e 353 cães controle. O RDW apresentou diferença para os grupos de animais com anemia moderada e grave, que apresentaram valores maiores, com relação ao grupo controle e com anemia discreta. O maior valor médio de RDW (14,45%) ocorreu no grupo com anemia grave. No grupo controle o VCM teve valor maior que os animais anêmicos, isto pode ter ocorrido devido à uma população mista de eritrócitos naquele grupo de animais. Entretanto, não houve diferença do VCM entre os diferentes graus de anemia e reticulocitose. Por isso o RDW é um indicador de anisocitose mais sensível que o VCM e seu valor é diretamente proporcional ao grau de anemia e reticulocitose, quando associados a sensibilidade para detecção de anisocitose em cães anêmicos é maior. O uso de valores de referência estabelecidos pelo próprio laboratório clínico é de extrema importância.

PALAVRAS-CHAVE: anemia; reticulócitos; VCM; RDW;

INTRODUÇÃO

A anemia em cães não é um diagnóstico primário, portanto torna-se necessário sempre investigar o tipo de anemia para se tentar determinar a causa do processo anêmico (COUTO, 2010). Uma etapa importante na investigação da causa da anemia é a sua classificação, que pode ser feita pela análise morfológica dos esfregaços sanguíneos e índices hematimétricos de Wintrobe. Dentre tais índices hematimétricos, o volume corpuscular médio (VCM) permite classificar a anemia como macrocítica, normocítica ou microcítica (HOROLD, 2010).

30 A presença de um grande número de macrócitos e/ou micrócitos circulantes no sangue
31 caracteriza a anisocitose eritrocitária observada na microscopia. Nestes casos, uma alteração
32 dos valores de VCM pode ser observada, uma vez que este índice é calculado a partir da
33 relação entre o volume globular (VG) e o número de eritrócitos. Dessa forma, o VCM é
34 considerado pouco sensível para detecção anisocitoses (WEISER, 1982). Já a avaliação
35 morfológica dos eritrócitos em microscopia óptica, embora seja de baixo custo, necessita de
36 um avaliador experiente para que não haja diferentes interpretações quanto ao tamanho dos
37 eritrócitos (SIMEL et al., 1988).

38 Os contadores hematológicos automatizados que utilizam a metodologia de impedância
39 se popularizaram na medicina veterinária nos últimos anos. Devido ao grande número de
40 eritrócitos analisados em cada amostra, estes equipamentos fornecem um valor de VCM mais
41 preciso e aditivamente calculam o valor de RDW, permitindo detectar com maior precisão o
42 grau de anisocitose (BESSMAN et al., 1983). Uma das limitações do uso clínico do RDW na
43 medicina veterinária é a grande variação dos valores obtidos em diferentes equipamentos,
44 sendo necessário que cada laboratório possua seus próprios valores de referência (HODGES e
45 CHRISTOPHER, 2011). A avaliação do diâmetro eritrocitário também pode ser realizada por
46 citometria de fluxo (WEISS, 2002; COWGILL et al., 2003), entretanto esta tecnologia é de
47 alto custo, o que torna um empecilho para sua utilização na rotina laboratorial.

48 A maior sensibilidade do RDW para revelar a anisocitose em relação ao uso do VCM já
49 foi comprovada em humanos (BESSMAN et al., 1983; MONZON et al., 1987; SIMEL, et al.,
50 1988) e vem sendo utilizado para avaliação de caninos e equinos (BALARIN, 2001;
51 PERRET, et al., 2001; FLAIBAN e BALARIN, 2004). Neiger et al. (2002) afirmam que o
52 RDW tem acurácia de 67% para detectar a anisocitose de eritrócitos caninos e esse valor se
53 eleva para 72% quando interpretado juntamente com o VCM.

54 A anisocitose ocorre principalmente em anemias do tipo regenerativas, comumente
55 observada quando a medula é responsiva e libera uma maior quantidade de eritrócitos jovens
56 de maior diâmetro na circulação (JAIN 1993). Independentemente do método analítico para
57 detecção de anisocitose (VCM, RDW, microscopia), estes parâmetros se alteram conforme a
58 resposta medular, porém até o momento não foi investigada a relação entre a anisocitose, o
59 grau da anemia e a reticulocitose na espécie canina.

60 Tendo em vista a ausência de estudos avaliando a relação entre o RDW, variável até
61 então considerada mais sensível para detecção de anisocitose, o VCM e a análise morfológica
62 em microscopia óptica, o presente estudo teve por objetivo principal testar a hipótese de que
63 os valores do RDW e VCM variam de acordo com o grau de anemia e da resposta medular.
64 Além de verificar se a quantidade de reticulócitos é capaz de alterar proporcionalmente esses
65 índices em cães e estabelecer valores de referência de RDW para espécie canina.

66

67 **MATERIAL E MÉTODOS**

68 *Seleção dos animais*

69 Trata-se de um estudo clínico não aleatorizado que utilizou 455 cães sem distinção de
70 sexo, raça e idade entre um mês e 18 anos de idade, todos atendidos no Hospital Veterinário
71 da Universidade. Destes animais selecionados, o grupo de animais anêmicos foi composto por
72 102 cães e o grupo de animais controle por 353. Só foram incluídos no grupo controle cães
73 destinados a castração eletiva que não apresentassem qualquer alteração hematológica e/ou
74 clínica. No grupo de animais anêmicos, foram selecionados cães com VG menor que 37%,
75 que posteriormente foram classificados de acordo com o grau de anemia, independentemente
76 de outras alterações hematológicas e clínicas.

77

78 *Análise das amostras*

79 Para as análises foram utilizadas amostras de sangue venoso acondicionadas em tubos
80 com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) na proporção de 1,8mg de
81 EDTA/mL de sangue. As contagens totais de eritrócitos, dosagem de hemoglobina e o
82 coeficiente de variação da distribuição do diâmetro eritrocitário (RDW) foram obtidos a partir
83 do contador automatizado de células ABC Vet (Horiba ABX, Paris, França). O VG foi obtido
84 pela técnica do microhematócrito de Wintrobe e dado em percentagem (%) e o VCM
85 calculado conforme Schalm et al. (1975) e expresso em femtolitros (fL). A contagem de
86 reticulócitos foi realizada utilizando o corante supravital de Azul de Cresil Brilhante,
87 conforme recomendações de Schalm et al. (1975).

88

89 *Classificação dos grupos de estudo*

90 O grupo de animais controle foi composto por 353 cães. De acordo com os critérios de
91 Harold (2010), utilizou-se o valor do VG para classificar a anemia como discreta (30 – 37%),
92 moderada (20 – 29%), grave (13 – 19%) e muito grave (< 13%). Dos 102 cães anêmicos
93 analisados, 34 apresentaram anemia discreta, 42 moderada, 20 grave e seis muito grave.

94 Conforme preconizado por Jain (1993), a intensidade da resposta medular dos cães
95 anêmicos foi estimada a partir da contagem absoluta de reticulócitos: resposta nula (até 60
96 mil/ μ L); discreta (60 até 150 mil/ μ L); moderada (150 até 300mil/ μ L) e intensa (>300mil/ μ L).
97 Nesta classificação 49 animais apresentaram resposta nula, 35 resposta discreta, 14 resposta
98 moderada e quatro resposta intensa.

99

100 *Análise estatística*

101 O valor de referência para RDW foi obtido a partir na análise do grupo controle,
102 considerando o valor médio, desvio-padrão e intervalo de confiança de 95%. Para as
103 comparações das variáveis entre os grupos, após análise de normalidade (teste de

104 Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade (teste de Bartlett), foi utilizado o teste não
105 paramétrico de Kruskal-Wallis, considerando-se significativo o valor de $P < 0,05$. Utilizou-se o
106 programa estatístico computacional InStat, versão 3.05. O grupo de cães com intensa
107 reticulocitose não foi comparado estatisticamente com os demais grupos, pois a quantidade de
108 animais foi muito pequena. O grupo com anemia muito grave foi agregado ao grupo com
109 anemia grave para análise estatística, também pelo mesmo motivo.

110

111 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

112 *Valores de referência de RDW em cães normais.*

113 O valor médio do RDW encontrado na avaliação hematológica dos 353 cães controle foi
114 13,4%, com intervalo de confiança de 13,3 a 13,5%. Os valores de referência de RDW do
115 presente estudo foi inferior aos dos demais estudos (NEIGER et al., 2002; FLAIBAN e
116 BALARIN, 2004; FERREIRA et al., 2009; SOUZA et al., 2012). Tal diferença pode ser
117 justificada devido à utilização de diferentes contadores de células automatizados, uma vez que
118 já se sabe da necessidade de cada laboratório obter seus valores de referências com seus
119 respectivos aparelhos na tentativa de evitar falhas na interpretação dos resultados dos exames
120 (HODGES et al., 2011).

121 Embora o fabricante do contador de células automatizado utilizado no presente estudo
122 (ABC Vet, Horiba ABX) forneça valores de referência de fábrica para a espécie canina, os
123 valores obtidos a partir da análise dos cães saudáveis (13,3-13,5%) foram inferiores aos
124 fornecidos pelo fabricante do aparelho (14-17%). Essa diferença ressalta ainda mais a
125 importância de cada laboratório obter seus próprios valores de referência.

126

127 *Os valores de RDW e VCM de acordo com o grau de anemia.*

128 Dos 102 cães anêmicos analisados, 34 (33,3%) apresentaram anemia discreta, 42
129 (41,2%) moderada, 20 (19,6%) grave e seis (5,9%) muito grave.

130 A comparação múltipla dos valores de VCM entre os grupos evidenciou que os cães
131 com anemia discreta e moderada apresentaram significativamente ($p < 0,001$) menores
132 valores de VCM que os animais do grupo controle, de forma que os animais com anemia
133 grave não difeririam de nenhum outro grupo (Figura 1). Os valores da mediana e do desvio-
134 padrão dos grupos são descritos a seguir: controle ($71,31 \pm 3,63$ fL), anemia discreta ($68,86 \pm$
135 $3,67$ fL), anemia moderada ($69,18 \pm 4,63$ fL) e anemia grave ($69,24 \pm 6,56$ fL).

136 Já a comparação múltipla dos valores de RDW entre os grupos resultou em diferença
137 significativa ($p < 0,01$) entre os grupos controle e com anemia discreta dos grupos com
138 anemia grave e moderada (Figura 1). Os valores medianos e os desvios-padrão de RDW são
139 descritos a seguir: grupo controle ($13,40 \pm 0,78\%$), anemia discreta ($13,30 \pm 1,12\%$), anemia
140 moderada ($14,05 \pm 1,98\%$) e anemia grave ($14,45 \pm 2,06\%$).

141 O aumento significativo dos valores de RDW apenas nos cães com anemia moderada e
142 grave (Figura 1) sugere que as anemias discretas induzem pouca ou nenhuma resposta
143 medular, haja vista que a ausência de reticulocitose nas anemias discretas não altera a
144 variação no tamanho das hemácias e assim o valor de RDW. Nesta condição de anemia
145 discreta, a hipóxia talvez seja insuficiente para promover aumento de eritropoietina e
146 consequentemente um aumento da produção de reticulócitos havendo apenas liberação de um
147 número maior de eritrócitos maduros (COWGILL et al., 2003).

148 Há de se considerar também que algumas anemias discretas de origem nutricional
149 (deficiência de ferro), além de não induzirem reticulocitose, podem gerar um padrão
150 homogêneo de produção de eritrócitos (macro ou microcíticos) em quadros agudos que não
151 alteram o RDW (WATSON e CANFIELD, 1986). Portanto, nestes casos de anemia discreta a
152 anisocitose poderá estar presente na ausência de alteração do RDW e pode, em alguns casos,

153 alterar significativamente o VCM sem que haja variação na amplitude das células.
154 Colaborando com esta hipótese, no presente estudo o VCM de cães com anemia discreta foi
155 significativamente menor que a do grupo controle (Figura 1). Já nos cães com anemia grave
156 (VG < 13%) o VCM não diferiu dos cães controle, enquanto o RDW aumentou
157 significativamente.

158 A utilização do RDW se torna uma alternativa para avaliar a presença de anisocitose.
159 Entretanto, valores elevados indicam um aumento na variação do diâmetro eritrocitário sem
160 distinção de tal alteração se deve à presença de macrócitos, micrócitos ou ambos (PERRET et
161 al., 2001). Já a combinação do RDW com a análise morfológica e o valor do VCM permite a
162 avaliação correta do tipo de alteração morfológica com uma maior sensibilidade.

163

164 *Os valores de RDW e VCM variam de acordo com o número de reticulócitos.*

165 Dos 102 cães anêmicos analisados, 49 (48%) apresentaram resposta nula, 35 (34%)
166 resposta discreta, 14 (14%) resposta moderada e quatro (4%) resposta intensa.

167 O RDW de cães portadores de anemia com resposta nula (reticulócitos <60mil/ μ L) foi
168 semelhante aos do grupo controle, enquanto os cães com respostas discreta e moderada
169 apresentaram significativamente ($p < 0,01$) valores mais elevados (Figura 2). Os valores
170 medianos e os desvios-padrão de RDW são descritos a seguir: grupo controle ($13,40 \pm$
171 $0,78\%$), resposta nula ($13,40 \pm 1,95\%$), resposta discreta ($13,90 \pm 1,45\%$) e resposta
172 moderada ($14,45 \pm 1,29\%$).

173 A alteração dos valores de RDW foi paralela ao aumento da taxa de reticulócitos.
174 Entretanto, o maior número de reticulócitos circulantes na maioria dos casos não promoveu
175 aumento significativo do VCM (Figura 2). Apenas um pequeno número de animais com
176 reticulocitose intensa ($n=4$) apresentaram valor de VCM maior do que os animais controle

177 (Figura 2), porém não foram incluídos na análise estatística devido ao pequeno número de
178 animais.

179 O fato de o VCM dos cães controle ter sido maior do que os dos cães nos diferentes
180 graus de anemia e de reticulocitose (Figuras 1 e 2) sugere que parte dos cães anêmicos
181 incluídos no estudo possuía uma população de eritrócitos mista, que contribuiu para o
182 aumento do RDW e redução dos valores de VCM. Este achado talvez se deva à presença de
183 quantidade significativa de células microcíticas, não obstante a concomitante presença de
184 reticulócitos. A presença de anisocitose mista ocorre comumente em resposta ao tratamento
185 eficaz de anemias microcíticas de origem nutricional (HAROLD, 2010). Embora alguns
186 indivíduos tenham apresentado valores extremos de VCM compatíveis com anemia macro e
187 microcítica (Figura 2).

188 Nas anemias discretas (Figura 1) e com resposta nula (Figura 2) houve alteração
189 significativa dos valores de VCM sem alteração dos valores de RDW em relação ao grupo
190 controle. Estes achados em cães corroboram com estudos humanos que afirmam que a
191 acurácia para detecção da anisocitose eritrocitária aumenta quando o RDW é utilizado
192 associado ao VCM (NEIGER et al., 2002).

193

194 **CONCLUSÃO**

195 O grau de anemia e de reticulocitose alteram de forma distinta os valores de RDW e de
196 VCM de cães.

197 O RDW é um indicador de anisocitose mais sensível que o VCM e seu valor é
198 diretamente proporcional ao grau de anemia e reticulocitose.

199 A sensibilidade para detecção de anisocitose em cães anêmicos é maior quando o VCM
200 é associado ao RDW.

201 A interpretação clínica adequada do RDW depende do uso de valores de referência
202 estabelecidos pelo próprio laboratório clínico.

203 Os valores de referência para as amostras de cães analisadas no aparelho ABC Vet
204 (Horiba ABX) é de 13,3 a 13,5%.

205

206 REFERÊNCIAS

207 BESSMAN, J.D.; GILMER, P.R.; GARBNER, F.H. Improved Classification of Anemias by
208 MCV and RDW. **American Society of Clinical Pathologists**, v. 80, n. 3, p. 322-326, 1983.

209

210 BALARIN, R. M. S.; FONTEQUE, J. H.; SOUZA, C. DE.; SAITO, M. E.;
211 KOHAYAGAWA, A.; LOPES, R. S. Valores da amplitude de distribuição do tamanho dos
212 eritrócitos (RDW – Red Cell Distribution Width) em equinos da raça puro sangue inglês (
213 PSI) de ambos os sexos de 12 a 24 meses de idade Red Blood Cell Distribution Width (
214 RDW) in thoroughbred horses. *Semina: Ciências Agrárias*, v.22, n.2, p.135–137, 2001.

215

216 COUTO, C.G. Anemia. In: **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro:
217 Elsevier, 2010. cap. 83, p. 1211-1225.

218

219 COWGILL, E.S.; NEEL, J.A.; GRINDEM, C.B. Clinical application of reticulocyte counts in
220 dogs and cats. **Veterinary Clinical Small Animal Practice**, v. 33, p. 1223-1244, 2003.

221

222 FERREIRA, G.S.; MASSON, G.C.I.H.; COSTA, E.D.C.P.; LIMA, D.J.S.; OLIVEIRA, G.S.;
223 SOARES, F.N.; MENESES, A.M.C.; SOUZAL, N.F.; AZUMA, M.R.; SOUZA, A.M.A.
224 Standardization of Red Blood Cell Distribution Widht (RDW) Values in Dogs From Northern
225 Region of Brazil. In: 34th Congress Word Small Animal Veterinary Association, 2009, São
226 Paulo. **Proceedings...** São Paulo, 2009.

227

228 FLAIBAN, K.K.M.C.; BALARIN, M.R.S. Estudo comparativo entre a amplitude de variação
229 dos eritrócitos (RDW – Red Blood Cell Distribution Width) e o Volume Globular (VG),
230 Volume Globular Médio (VGM) e a presença de anisocitose em extensão sanguínea em cães.
231 **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 2, p. 125-130, 2004.

232

233 HAROLD, T. Laboratory and Clinical Diagnosis of Anemia. In: **Schalm's Veterinary**
234 **Hematology**. 6. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2010. cap. 24, p. 152-161.

235

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

239

- 240 SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. Hematologic Techniques. In: **Schalm's**
241 **Veterinary Hematology**. 3. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1975. cap 2, p. 20-86.
242
- 243 WATSON, A.D.J.; CANFIELD, P.J. Nutricional Deficiency Anemias. In: **Schalm's**
244 **Veterinary Hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. cap 32, p. 190-195.
245
- 246 JAIN, N.C. Erythrocyte Physiology and Changes in Disease. In: **Essentials of Veterinary**
247 **Hematology**. 1. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. cap 7, p. 133-158.
248
- 249 MONZON, C.M.; BEAVER, B.D.; DILLON, T.D. Evaluation of Erythrocyte Disorders With
250 Mean Corpuscular Volume (MCV) and Red Cell Distribution Width (RDW). **Clinical**
251 **Pediatrics**, v. 26, n. 12, p. 632-638, 1987.
252
- 253 NEIGER, R.; HADLEY, J.; PFEIFFER, D.U. Differentiation of dogs with regenerative and
254 non-regenerative anaemia on the basis of their red cell distribution width and mean
255 corpuscular volume. **Veterinary Record**. v. 150, p. 431-434, 2002.
256
- 257 PERRET, D.; TRUMEL, C.; DIQUÉLOU, A.; DOSSIN, O.; GUELFY, J.F. L'indice de
258 distribution des globules rouges (IDR) chez le chien. Analyse de 1400 cas. **Revue Medicne.**
259 **Veretinaire**, v. 152, n. 7, p. 549-554, 2001.
260
- 261 SIMEL, D.L.; DELONG, E.R.; FEUSSNER, J.R.; WEINBERG, J.B.; CRAWFORD, J.
262 Erythrocyte Anisocytosis - Visual Inspection of Blood Films vs Automated Analysis of Red
263 Blood Cell Distribution Width. **Archive Internal Medicine**, v. 148, p. 822-824, 1988.
264
- 265 SOUZA, A.M.; CAMARGO, M.B.; TENDLERLEIBELBACELLAR, D.; CAMPOS, S.D.;
266 FILHO, R.A.T.; ALENCAR, N.X.; XAVIER, M.S.; MACIEIRA, D.B.; ALMOSNY, N.R.P.
267 Age and sex influence in canine Red Cell Distribution Width (RDW-CV and RDW-SD)
268 values **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 90-93, 2012.
269
- 270 WEISER, M.G. Erythrocyte Volume Distribution Analysis in Healthy Dogs, Cats, Horses,
271 and Dairy Cows. **American Journal Veterinary Research**, v. 43, n. 1, p. 163-166, 1982.
272
- 273 WEISS, D.J. Application of flow cytometric techniques to veterinary clinical
274 hematology. **Veterinary Clinical Pathology**, Baton Rouge, v.31, n.2, p.72-82, 2002.

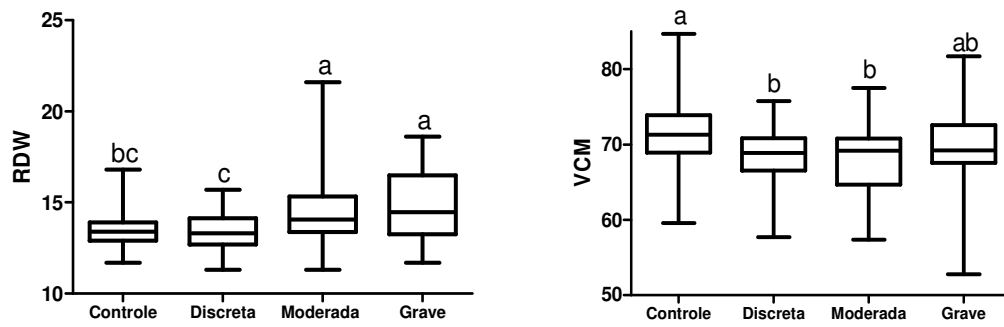


Figura 1. Boxplot da distribuição do diâmetro eritrocitário (RDW) e do volume corpuscular médio (VCM) de cães controle e com anemia discreta, moderada e grave (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ para RDW e $p < 0,001$ para VCM).

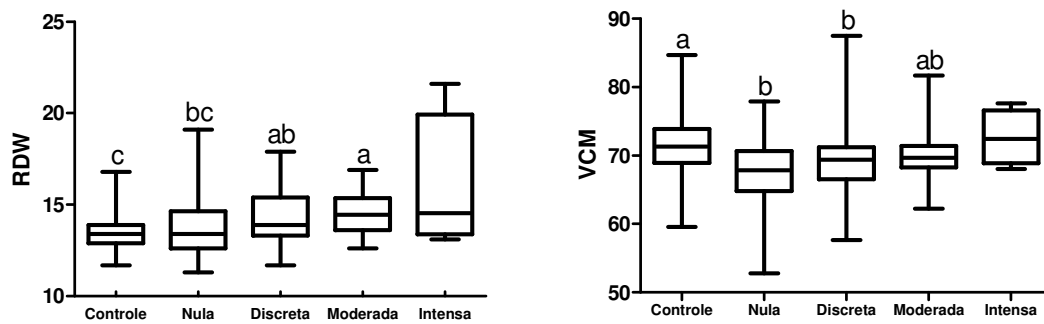


Figura 2. Boxplot da distribuição do diâmetro eritrocitário (RDW) e volume corpuscular médio (VCM) de cães controle e anêmicos de acordo com a taxa de reticulócitos: até 60 mil/ μ L (nula), discreta (60 - 150 mil/ μ L), moderada (150 - 300mil/ μ L) e intensa (>300mil/ μ L) (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$ para RDW e $p < 0,01$ para VCM).