

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**INVESTIGAÇÃO DO RISCO DE ÓBITO EM PACIENTES CANINOS COM O  
PERFIL HEMOSTÁTICO ALTERADO**

**ANA PAULA SOARES BORENSTEIN**

**PORTO ALEGRE**

**2018/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**INVESTIGAÇÃO DO RISCO DE ÓBITO EM PACIENTES CANINOS COM O  
PERFIL HEMOSTÁTICO ALTERADO**

**Autor: Ana Paula Soares Borenstein**

**Trabalho apresentado à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial  
para a obtenção da graduação em  
Medicina Veterinária**

**Orientador: Stella de Faria Valle**

**PORTO ALEGRE**

**2018/2**

## RESUMO

O sistema hemostático previne a perda de sangue excessiva, mantém o fluxo sanguíneo adequado, permite o reparo e recuperação dos vasos danificados, preservando assim a integridade vascular, além de remover os coágulos sanguíneos. Avaliação laboratorial da coagulação sanguínea é muito importante, permitindo identificar as causas e definir a intensidade das lesões no sistema hemostático ocasionadas por doenças hemorrágicas e trombóticas, que são ameaças a vida do paciente. Neste presente estudo foram avaliados três parâmetros hemostáticos, TP (tempo de protombina), TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativada) e contagem plaquetária de 218 pacientes caninos atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias do Rio Grande do Sul. Eles foram divididos em sete grupos conforme o tipo de alteração que apresentavam nos exames laboratoriais utilizados. O grupo um eram pacientes que não apresentavam alterações no perfil hemostático, grupo dois pacientes com trombocitopenia, grupo três pacientes com TP prolongado, grupo quatro pacientes com TTPA prolongado, grupo cinco pacientes com trombocitopenia e TTPA prolongado, grupo seis com TP e TTPA prolongado e grupo sete com trombocitopenia, TP e TTPA prolongados. Foi verificado que os grupos cinco (Trombocitopenia e TTPA prolongado), seis (TP e TTPA prolongado) e sete (Trombocitopenia, TP e TTPA prolongados) apresentaram uma diferença significativa na proporção de óbitos, e foi verificado 3,061; 5,17 e 4,13 vezes mais risco de óbito quando comparados aos pacientes do grupo um, que não apresentavam alterações hemostáticas. Esse risco de óbito pode ser relacionado com diversos distúrbios hemostáticos hereditários ou adquiridos, como a CID (coagulação intravascular disseminada), falência hepática, distúrbios da vitamina K e coagulopatias hereditárias. Foi possível concluir no presente estudo, que os distúrbios relacionados com a hemostasia são muito importantes para definir o prognóstico e o tratamento adequado, e um perfil hemostático completo pode direcionar para o diagnóstico correto. Não foi possível identificar com certeza as causas primárias ou disfunções específicas devido ao estudo ter analisado apenas três testes laboratoriais de hemostasia sem o histórico clínico dos pacientes caninos, entretanto foi possível observar um risco de óbito significativamente aumentado naqueles que possuíam um, dois ou três parâmetros alterados em relação aos cães sem alterações hemostáticas. Os óbitos podem ter ocorrido por complicações decorrentes da causa primária, ou como consequência dos distúrbios hemostáticos, que predispõe o paciente a eventos hemorrágicos.

**Palavras-chave:** distúrbios hemostáticos, coagulopatia, trombocitopenia, cães, óbito

## ABSTRACT

The hemostatic system prevents excessive blood loss, keeps an adequate blood flow, allows the healing of blood vessels preserving vascular integrity, and removes the blood clots from circulation. The blood clotting laboratorial evaluation is very important because identifies the causes and defines the intensity of the damage to the hemostatic system, caused by life-threatening hemorrhagic and thrombotic diseases. In this present study three laboratorial parameters were evaluated, PT (prothrombin time), APTT (activated partial thromboplastin time) and platelet count of 219 canine patients attended at the Veterinary Hospital of the Rio Grande do Sul state university. They were initially divided into eight groups according to the presenting alterations on the laboratorial analyses but between the select dogs, there was no one presenting thrombocytopenia and prolonged PT. The remaining groups were group one with no hemostatic alterations, group two with thrombocytopenia, group three with prolonged PT, group four with prolonged APTT, group five with thrombocytopenia and prolonged APTT, group six with prolonged PT and APTT and group seven with thrombocytopenia, prolonged PT and APTT. The groups five (Thrombocytopenia and prolonged APTT), six (prolonged PT and APTT) and seven (Thrombocytopenia, prolonged PT and APTT) showed a significant difference at the death rate, and 3,061, 5,17 and 5,13 times more death risk than the patients in the group one with no hemostatic alterations. This death risk can be associated with various hemostatic diseases and syndromes, like DIC (Disseminated intravascular coagulation), liver failure, disturbances on Vitamin K and hereditary coagulopathies. In conclusion, the coagulopathies are very important to define the patient prognosis and the adequate treatment, and a through hemostatic profile can help achieve the correct diagnosis. It was not possible to clearly identify the primary causes or specific dysfunctions because there were only three laboratorial parameters being evaluated, and there was no clinic history of the patients, however it was possible to observe a significantly higher death risk in those canines that had one, two or three altered parameters compared to those with no hemostatic alterations. The deaths could be caused by complications on the primary cause or as consequence of the hemostatic disorders, that predispose the patient to hemorrhagic events.

**Key words:** hemostatic disorders, coagulopathy, thrombocytopenia, dogs, death

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL: microlitro

ATP: adenosina trifosfato

AT: anti-trombina

CAPM: cininogênio de alto peso molecular

CID: coagulação intravasculas disseminada

FI: fator I

FII: fator II

FIX: fator IX

FIXa: fator IX ativado

FT: fator tecidual

FV: fator V

FVa: fator V ativado

FVII: fator VII

FVIII: fator VIII

FvW: fator de von Willebrand

FX: fator X

FXa: fator X ativado

FXI: fator XI

FXIa: fator XI ativado

FXII: fator XII

FXIIa: fator XII ativado

MO: medula óssea

PDF: produtos de degradação da fibrina

PK: pré-caliceína

RR: risco relativo

TCA: tempo de coagulação ativado

TIM: trombocitopenia imunomediada

TP: tempo de protrombina

Tpo: trombopoietina

TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	6
2.1 Equilíbrio hemostático .....	6
2.1.1 Plaquetas.....	7
2.1.1.1 Produção .....	8
2.1.1.2 Cinética.....	9
2.1.1.3 Avaliação laboratorial.....	9
2.1.2 Hemostasia Secundária.....	10
2.1.2.1 Cascata de coagulação e fibrinólise .....	12
2.1.2.2 Avaliação laboratorial.....	14
<b>3 MATERIAIS E METODOS</b> .....	15
<b>4 RESULTADOS</b> .....	16
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	17
5.1 Trombocitopenia.....	17
5.2 Prolongamento dos tempos de TP, TPPA e trombocitopenia.....	19
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	25
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26

## 1 INTRODUÇÃO

O sistema cardiovascular carrega sangue para os tecidos do corpo e é suscetível a lesões mecânicas, inflamatórias entre outras. Animais saudáveis possuem um sistema hemostático equilibrado e controlado para prevenir a perda de sangue excessiva, manter o fluxo sanguíneo adequado para a distribuição de oxigênio para os tecidos, permitir o reparo e recuperação dos vasos danificados, preservando assim a integridade vascular, além de remover os coágulos sanguíneos (SMITH, 2010; BAKER, 2012; VERSTEEG *et al.*, 2013). O sistema hemostático é um sistema complexo, que envolve a coordenação entre múltiplos fatores como células endoteliais, plaquetas, fatores de coagulação, agentes fibrinolíticos e inibidores da hemostasia, sendo as plaquetas e os fatores de coagulação os agentes principais do processo de coagulação (PALTA *et al.*, 2014).

A avaliação laboratorial da coagulação sanguínea tem como objetivo identificar as causas e definir a intensidade das injúrias no sistema hemostático ocasionadas por doenças hemorrágicas e trombóticas (LOURENÇO, 2001). O sangramento excessivo e a trombose intravascular são ameaças a vida do paciente (BAKER, 2007) e a perda de sangue é a condição clínica que mais necessita o uso da terapia transfusional com sangue e seus derivados (DE GOPEGUI; FELDMAN, 1995). Conhecer quais pacientes tem um risco maior de sangramento, identificar quais possuem um maior risco de óbito e os fatores prognósticos relacionados é de extrema importância para definir o tratamento adequado e um desfecho clínico favorável.

Diversos estudos já demonstraram que realizar testes direcionados e saber interpretá-los diminuem o risco de óbito do paciente e diminuem o número de transfusões desnecessárias (MALLET; ARMSTRONG, 2015). O objetivo deste estudo retrospectivo foi avaliar o prolongamento dos tempos de Protrombina (TP) e Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA) associados a trombocitopenia como indicadores de prognóstico desfavorável (óbito) em pacientes caninos hospitalizados. A contagem de plaquetas avalia a hemostasia primária e o TP e TTPA avaliam a hemostasia secundária (PETERSON *et al.*, 1995), e são os três testes mais utilizados na rotina laboratorial do LacVet – UFRGS. Embora se reconheça a importância clínica da alteração de exames laboratoriais do perfil hemostático, o valor prognóstico destas alterações nem sempre são evidentes, o que faz com que o estudo do risco de óbito associado as alterações em exames laboratoriais comumente utilizados seja fundamental para a área da clínica e cirurgia de pequenos animais.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Equilíbrio hemostático

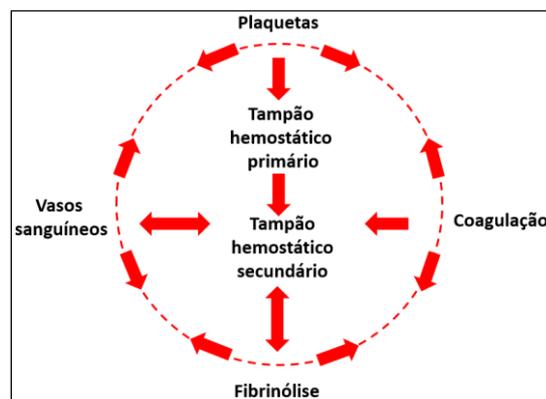
A hemostasia pode ser dividida tradicionalmente em 3 partes: hemostasia primária, secundária e fibrinólise. A hemostasia primária consiste na interação entre as plaquetas e o vaso sanguíneo, e a hemostasia secundária é relacionada a ativação das vias de coagulação enquanto a fibrinólise está associada a lise do tampão ou trombo através da transformação de plasminogênio em plasmina (PETERSON *et al.*, 1995).

Na ocorrência de uma lesão vascular (trauma, inflamação, neoplasia, toxicidade) há primeiro a vasoconstrição para reduzir a perda sanguínea (PRATER;TVEDTEN, 2004). As células endoteliais expressam tanto funções antitrombóticas para limitar a coagulação, como funções pró-trombóticas para limitar o sangramento. As vias da coagulação são ativadas principalmente pelo fator tecidual (FT ou Fator III), e quando proteínas da matriz extracelular como colágeno do tecido lesionado são expostas, há adesão plaquetária, junto ao Fator de Von Willebrand (FvW) fornecidos pelas células endoteliais. Ele funciona como um adesivo que fixa as plaquetas às proteínas da matriz celular expostas. Assim que as plaquetas se aderem, há uma ativação que funciona como feedback positivo, recrutando outras plaquetas e continuando o processo de ativação. Elas então iniciam vias metabólicas e transformações morfológicas que proporcionam a formação do tampão hemostático secundário. Seus subprodutos também mantem a vasoconstrição (20 a 60 min) e promovem a coagulação, e suas membranas são uma fonte importante de fosfolipídios para acelerar a coagulação (BUSH, 2004; STOCKHAM; SCOTT, 2011; STOCKOL, 2016).

Concomitantemente a esse processo, ocorre a hemostasia secundária, que é a formação de fibrina na superfície das plaquetas ativadas através dos fatores de coagulação. A produção de trombina (Fator IIa) - evento chave desse processo - e a subsequente conversão de fibrinogênio (Fator I) em fibrina forma o chamado tampão hemostático secundário. Quando as vias de coagulação são ativadas, a fibrinólise ajuda a controlar a extensão da coagulação degradando fibrina, o que contribui para a formação de do tampão, e promove por fim sua remoção para manter o fluxo sanguíneo normal. Qualquer anormalidade nesse sistema pode provocar uma alteração no equilíbrio e ocasionar trombose ou hemorragia. Os exames dos componentes individuais desse sistema podem ser utilizados para descobrir, explicar, monitorar ou fornecer prognósticos desses estados patológicos (STOCKHAM; SCOTT, 2011; STOCKOL, 2016).

Os distúrbios hemostáticos observados em animais podem ser ocasionados por trombocitopenia (destruição imunomediada, hipoplasia medular, consumo excessivo ou sequestro), vasculite, defeitos funcionais plaquetários, coagulopatias congênitas (deficiência do fator VIII - hemofilia A ou do fator IX - hemofilia B) ou adquiridas (hepatopatias, antagonismo de vitamina K) (TAKAHIRA, 2008). Os distúrbios mais comumente observados em cães são trombocitopenia, coagulação intravascular disseminada (CID) e doença de Von Willebrand (DE GOPEGUI & FELDMAN, 1995). A Figura 1 esquematiza a hemostasia em um animal saudável.

Figura 1 – Mecanismo da hemostasia em um animal saudável



Fonte: modificado de Stockham e Scott, 2011, p.215

### 2.1.1 Plaquetas

Plaquetas são fragmentos citoplasmáticos anucleados dos megacariócitos derivados de células-tronco hematopoiéticas. Em mamíferos possuem formato de um pequeno disco chato. As plaquetas de mamíferos compartilham a maior parte dos componentes, que são uma membrana fosfolipídica contendo glicoproteínas importantes para comunicação entre as células e fosfolipídios essenciais para a coagulação. Também possuem um sistema tubular denso que armazena  $Ca^{2+}$ , servindo como um condutor para as substâncias que se movem entre as plaquetas e o plasma (não é bem desenvolvido em equinos e bovinos), e que contribui para um aumento substancial da área de superfície externa das plaquetas após a ativação (importante para a síntese de tromboxano  $A_2$ , que faz a ativação subsequente por feedback positivo). Um citoesqueleto associado a um anel microtubular periférico, alfa-grânulos que armazenam numerosas proteínas envolvidas em hemostasia e reparação vascular, grânulos densos contendo  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , difosfato de adenosina, ATP e serotonina, todos os quais são secretados com estímulos apropriados,

actina e miosina abundantes, que mantém a forma discóide e permite a alteração de forma e a formação de pseudópodos após a ativação, e reservas de glicogênio e mitocôndrias para energia (STOCKHAM; SCOTT, 2011; BAKER, 2012; HARVEY, 2012).

A principal função das plaquetas é auxiliar o reparo da lesão vascular, impedindo a ocorrência de hemorragia ao formar tampões hemostáticos em nível endotelial (hemostasia primária), cessando o fluxo sanguíneo, e são constantemente consumidas nesse processo. Elas fornecem uma superfície (sítios de ligação) para a formação dos complexos Fator IXa/Fator VIIIa (complexo ‘tenase’) e complexo Fator Xa/fatorVa (complexo ‘protrombinase’) para formar trombina. Durante um estado inflamatório, elas agem como amplificadoras da cascata de coagulação e fazem recrutamento de células. Outras funções não hemostáticas consistem em interagir com leucócitos (agregados de plaqueta-neutrófilo) e liberam amina vasoativas, citocinas inflamatórias, mitógenos e fatores de crescimento, sendo assim importante na inflamação e cicatrização de feridas. (STOCKHAM; SCOTT, 2011; AMMOLLO, *et al*, 2011). Essas novas evidências da função plaquetária como imunomediadoras, podem ser um bom alvo terapêutico na sepse. Dados de estudos com animais e humanos com sepse mostraram a contribuição plaquetária na disfunção de múltiplos órgãos (STOCKHAM; SCOTT, 2011; GREGCO, *et al*, 2017).

#### 2.1.1.1 Produção

A produção das plaquetas circulantes a partir das células tronco hematopoiéticas pode ser dividida em megacariopoiese e trombopoiese, sendo a megacariopoiese a proliferação e maturação de megacariócitos que ocorre em tecidos hematopoiéticos, principalmente a medula óssea. As células progenitoras mielóides da medula óssea respondem a citocinas, principalmente a Tpo (trombopoietina), sofrendo assim proliferação e maturação. A Tpo é a citocina regulatória mais importante em todos os estágios da megacariopoiese e trombopoiese, e é produzida principalmente nos hepatócitos, no epitélio tubular renal e em células do estroma da medula óssea (RUSSEL, 2010; STOCKHAM; SCOTT, 2011).

A trombopoiese é a formação de plaquetas a partir de megacariócitos, as liberando para a circulação. Esse processo ocorre na medula óssea, e em outros locais de hematopoiese como o baço e também o pulmão. Ainda assim há uma produção basal limitada tanto de megacariócitos quanto de plaquetas que ocorre na ausência da Tpo. Além disso, ela também é importante para manutenção adequada de populações de células-tronco hematopoiéticas (RUSSEL, 2010; STOCKHAM; SCOTT, 2011).

Há uma relação inversa entre concentração plaquetária e Tpo, visto que quando há poucas plaquetas haverá um estímulo para Tpo aumentar, e permanecer disponível para estimular os megacariócitos (RUSSEL, 2010; STOCKHAM; SCOTT, 2011).

#### 2.1.1.2 Cinética

A quantidade de plaquetas no sangue é estabelecida pelas taxas relativas de produção, consumo e destruição bem como o desvio de plaquetas entre o tecido e para a circulação. A produção é estimulada por citocinas e pelo número de células responsivas. Elas são liberadas no sangue proporcionalmente a concentração Tpo, que é controlada pela massa total de plaquetas circulantes, não pelo número, portanto é possível ter uma trombocitopenia leve com sinal de regeneração da linhagem (PRATER; TVEDTEN, 2004).

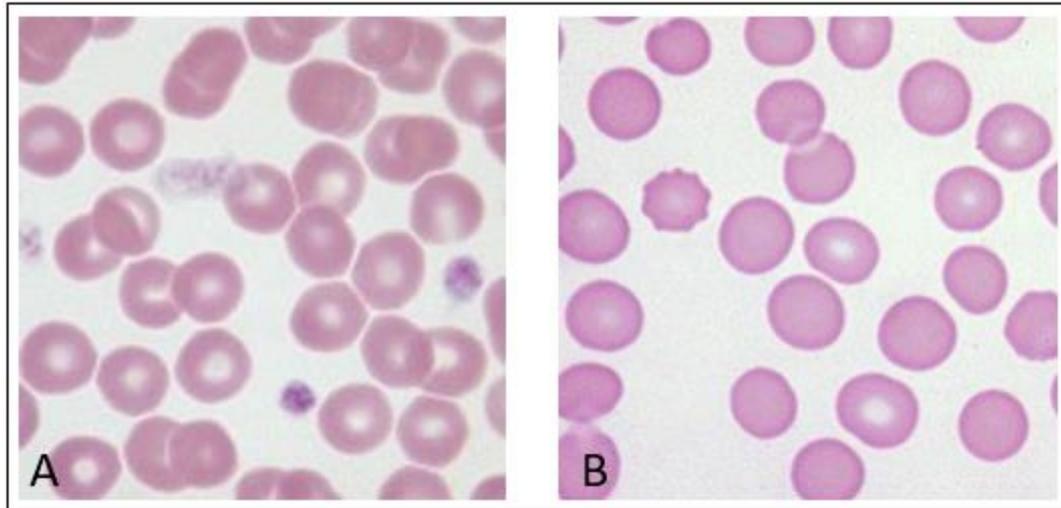
O consumo de plaquetas é contínuo já que há o reparo constante de defeitos vasculares de pouca gravidade no dia-a-dia. As plaquetas circulam de cinco a dez dias em cães saudáveis (PRATER; TVEDTEN, 2004), e o período de vida médio delas parece estar relacionado com o estado trombocitopênico acentuado, mesmo quando a trombocitopenia é causada pela diminuição na produção. Isso pode ser explicado pelo fato de que quando há uma trombocitopenia intensa, ainda há uma exigência estabelecida de plaquetas para a manutenção da integridade vascular, e um percentual acentuadamente maior das plaquetas é consumida nessa manutenção de rotina (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Assim como em humanos e em coelhos como foi demonstrado em alguns estudos, o baço tem 33% das plaquetas armazenadas em qualquer momento (um quarto até um terço). A epinefrina e a contração esplênica podem liberar essas plaquetas para a circulação (resultando em uma pseudotrombocitose), ao mesmo tempo que o ingurgitamento esplênico também pode aprisioná-las. O número de plaquetas pode ser alterado por destruição, produção, consumo, redistribuição e transfusão (PRATER; TVEDTEN, 2004; STOCKHAM; SCOTT, 2011).

#### 2.1.1.3 Avaliação laboratorial

A contagem de plaquetas pode ser determinada de forma manual e automática por impedância ou a laser. No caso das contagens automatizadas, deve sempre ser conferida através de contagem estimativa no esfregaço sanguíneo, corado com corantes hematológicos que se baseiam no princípio de Romanowsky como Wright, Panótico rápido ou Giemsa, e verificada no microscópio com aumento de 100x (lente de imersão) em cinco campos diferentes. Os cães

têm oito a 29 plaquetas por campo normalmente, e os valores de referência variam em animais saudáveis entre 100.000 a 800.000 plaquetas/ $\mu$ L totais (PRATER; TVEDTEN, 2004; BAKER, 2012). Abaixo uma figura comparando um esfregaço sanguíneo de um cão com a contagem plaquetária dentro dos valores de referência e um cão trombocitopênico (Figura 2).

Figura 2 – Esfregaços sanguíneos de dois cães



A figura A mostra as plaquetas distribuídas em uma monocamada em um cão sadio, e a figura B mostra ausência de plaquetas em um cão com trombocitopenia severa.

Fonte: Imagens do site do laboratório da Cornell university college of veterinary medicine

### 2.1.2 Hemostasia Secundária

Os fatores de coagulação estão presentes no plasma em uma pequena quantidade ( $\mu$ g/mL), e a maioria são proteases, produzidas armazenas, em sua maioria, pelo fígado. Eles são ativados principalmente pela exposição a tromboplastina do tecido expressada na superfície de micropartículas circulantes, células endoteliais estimuladas ou fibroblastos extravasculares. Depois da ativação inicial com produção de pequenas quantidades de trombina, os fatores de coagulação continuam sendo ativados através de amplificação de feedback para aumentar o estímulo inicial. O evento que culmina da ativação dos fatores de coagulação, é a conversão do fibrinogênio em fibrina, e a formação do tampão estável de fibrina em associação com as plaquetas para ocluir o fluxo sanguíneo de um vaso danificado. Toda essa sequência de eventos tem sido descrita desde 1960 como uma cascata. A deficiência ou ausência de um ou mais fatores de coagulação vão atrasar a formação da fibrina, causando um sangramento excessivo, resultando em uma coagulopatia (BAKER, 2012; MISCHKE, 2012). Distúrbios hemostáticos

secundários cursam com sangramentos profundos, sangramentos em cavidades (hemoperitônio, hemartroses) e hemorragias com formação de hematomas (Figura 3) (HERRING; MCMICHAEL 2012).

Figura 3 – Paciente canino após procedimento cirúrgico de artroplastia.



A figura mostra hematoma em região abdominal ventral, escrotal e de membro direito

Fonte: Moroz (2015, p.138).

O esquema de ativação e amplificação da hemostasia tem sido tradicionalmente dividido em via intrínseca, extrínseca e comum. Esse esquema define duas vias de ativação: por exposição a tromboplastina tecidual e ativação por contato da membrana basal e colágeno (ou outra superfície carregada negativamente). Entretanto os resultados de análises recentes sobre a cinética dos fatores individuais sugerem que a ativação inicial por tromboplastina tecidual produz pequenas quantidades de trombina, que é então amplificada por alças de ativação subsequente das vias intrínseca, extrínseca e comum. Nessa alça de ativação é importante a ativação dos fatores VII, VI, e os aceleradores (fator V e VIII) por trombina (Fator IIa). Isso sugere que a ativação por contato não é tão significativa na contribuição para a ativação dos fatores de coagulação, e que o sistema intrínseco funciona primariamente como um amplificador que é ativado após a geração inicial de trombina gerada pela tromboplastina tecidual (TRIPODI *et al.*, 2007; BAKER, 2012).

### 2.1.2.1 Cascata de coagulação e fibrinólise

A cascata de coagulação, desde 1960 tem sido descrita através do modelo tradicional de 3 vias independentes. Nesse esquema ela se inicia com a ativação da via extrínseca (ou do Fator Tecidual), ou induzida pela superfície/contato (via intrínseca) e termina na formação de fibrina estável através do Fator X (via comum). O primeiro evento da cascata se dá pela ativação do Fator VII após o Fator Tecidual (FT) ficar disponível após a lesão endotelial (via extrínseca). O complexo “fator tecido” composto pelo FVIIa (Fator VII ativado) e FT é responsável por ativar o Fator X (FX), e também o Fator IX na presença de íons de Cálcio. O FX interage com o Fator V, gerando um complexo protrombinase, que gera trombina (Fator IIa), a trombina ativa o Fator XI, e há amplificação dos Fatores V e VII (pró-cofatores), para que haja uma produção continuada do Fator Xa pela via intrínseca (STOCKHAM; SCOTT, 2011; MISCHKE, 2012; HARVEY, 2012).

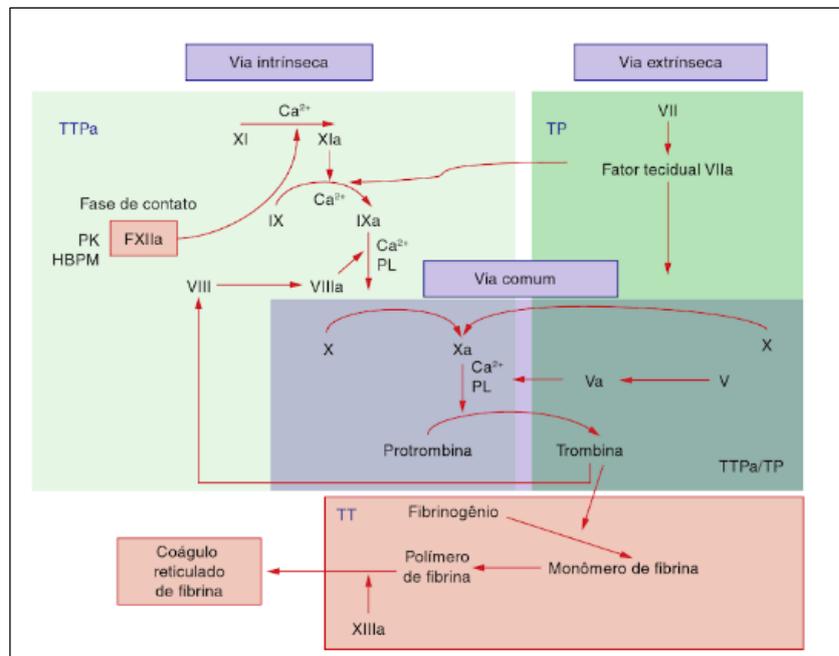
A via intrínseca ocorre primeiramente na superfície da plaqueta ativada. A ativação plaquetária ocorre quando há a ligação entre a plaqueta e a matriz subendotelial via Fator de Von Willebrand (Vwf). Ela é responsável pela ativação do Fator XII. Uma vez ativado, agora FXIIa, ele fica ligado a superfície facilitando a ligação do cofator Cininogenio de alto peso molecular (CAPM). O FXIIa cliva o fator XI, produzindo FXIa que cliva o fator IX, formando FIXa na presença de  $Ca^{2+}$ . Assim, esse complexo chamado tenase (FIXa- FVIIIa), ativa o FX no início da via comum (CARLOS; FREITAS, 2007; HARVEY, 2012;)

A via comum começa na ativação do FX, que ativado, é o fator FXa e forma um complexo com o Fator Va (ativado pela trombina), chamado de protombinase ou ativador de protrombina. Ele converte a protrombina (Fator II) em trombina (Fator IIa) que tem como principal ação a conversão de fibrinogênio (fator I) em fibrina, quando interligados pelo fator XIII ativado (que circula no plasma sob a forma de proenzima inativada, ativado depois pela trombina). Ele funciona como um catalisador, e na presença do cálcio forma a fibrina insolúvel (GUYTON; HALL, 2002; STOCKHAM; SCOTT, 2011; MISCHKE, 2012).

A fibrinólise faz parte da etapa final da hemostasia, que engloba o reparo do endotélio vascular e a dissolução do coágulo de fibrina, para reestabelecer um fluxo de sangue adequado. A cascata a partir desse ponto é proteolítica, mediada pela enzima plasmina, derivada do precursor inativo circulante no plasma, o plasminogênio, sintetizado pelo fígado. É ela que degrada a fibrina e em fragmentos menores, denominados de PDF (Produtos de degradação da fibrina). Concomitantemente, há a liberação de restos de plaquetas e outros materiais celulares na malha de fibrina, e a remoção se dá pelo sistema retículo endotelial. Como a coagulação, a

fibrinólise também é controlada por inibidores plasmáticos específicos. Ela acontece simultaneamente com os processos de coagulação (SWENSON, 2006; LATIMER, 2011; MISCHKE, 2012). A cascata de coagulação sanguínea está ilustrada na Figura 4.

Figura 4 – Esquema da cascata da coagulação sanguínea



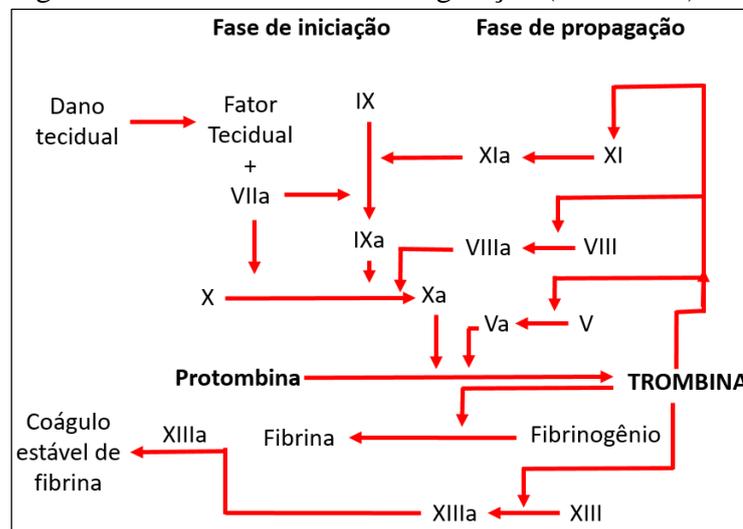
Fonte: Arruda e High (2015, p.194)

Nota-se que uma via não pode compensar o funcionamento da outra, portanto se houver um defeito na via intrínseca, o funcionamento normal da via extrínseca não vai evitar que ocorra um distúrbio hemorrágico, por exemplo (SILVA; HASHIMOTO, 2006).

Estudos mais recentes sugerem um modelo celular (*cell-based*) de coagulação, que evidencia várias áreas de interação entre as ‘vias’ (MANN, *et al.*, 1992). Esse modelo divide o processo em duas fases, ou até três, dependendo do autor. Sendo elas: iniciação, propagação e amplificação. Na fase de iniciação, o FT entra em contato com o sangue e se liga ao FVIIa (proteína dependente de Vitamina K) imediatamente, começando a coagulação. Então esse Fator VII, que pode ser ativado pelo FIXa, FXa, FXII, trombina, plasmina, ou FVII, forma um complexo com o FT (MORRISEY *et al.*, 2012). O complexo FT-VIIa ativa FIX para FIXa e FX para FXa, esse mesmo gerando uma pequena quantidade de trombina (TANAKA *et al.*, 2009). A segunda fase, de amplificação, é representada como um período pró trombótico, que resulta na ativação plaquetária, com a exposição da sua membrana fosfolípídica, e a criação de uma membrana coagulatória. A pequena quantidade de trombina gerada na fase anterior separa o

Fator de Von Willebrand do FVIII, ativado-o. As plaquetas ativadas nessa fase fornecem uma superfície para que haja a ligação dos fatores da fase de propagação (HOFFMAN, 2003). Após a ativação dos Fatores X, IX, e cofatores V e VIII (ativados pela trombina) na fase de iniciação, o FIXa junto com FVIIIa se ligam a superfície plaquetária formando o complexo tenase, que ativa o Fator X, resultando em FXa, esse complexo fica então formado por FIXa, FVIIIa, FX e cálcio (BAUGH *et al*, 1998). O FXa inicia o complexo protrombinase, composto por FVa, FXa e cálcio. É ele que possibilita a transformação de protrombina em trombina, gerando uma grande quantidade de fibrina presente no coágulo (HOFFMAN, 2003). Esse modelo está representado na figura 5.

Figura 5 – Modelo celular de coagulação (*cell-based*).



A figura mostra as interconexões entre as vias intrínseca e extrínseca (Fase de iniciação e propagação).

Fonte: Adaptado de Maureen (2012, p.42).

### 2.1.2.2 Avaliação laboratorial

Um perfil laboratorial básico para avaliar a hemostasia inclui contagem plaquetária (hemostasia primária), TP (tempo de protrombina) e TTPA (tempo de tromboplastina ativada). Pode se incluir também tempo de trombina e/ou concentração de fibrinogênio quando há TP e TTPA prolongados, podendo identificar se o estágio final da coagulação que está comprometido. O tempo de sangramento, um teste simples, pode mostrar se há alguma deficiência de fatores de coagulação e tempo de coagulação ativado (TCA), que serve basicamente para identificar disfunções ou deficiências nos fatores da via intrínseca ou comum, usado na monitoração de terapia com heparina.

O TTPA simula *in vitro* a coagulação via ativação por contato, e identifica anormalidades nas vias intrínseca (CAPM, PK, FXII, FXI, FIX, FVIII) e comum (FX, FV, FII ou FI/fibrinogênio) (STOCKOL, 2016). O TP em animais não é sensível o suficiente para detectar diminuição acentuada dos fatores de coagulação, mas é um teste confiável de disfunções na via extrínseca em cães e gatos. O aumento de TP significa uma deficiência significativa de fatores de coagulação (<30%) (BAKER, 2012; STOCKOL, 2012; MISHKE, 2012).

### 3 MATERIAIS E METODOS

Um estudo retrospectivo foi conduzido utilizando uma base de dados dos exames e dos prontuários dos pacientes atendidos no Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, durante o período de 2014 a 2018. Para esta pesquisa, foram selecionados pacientes durante o período em que estavam hospitalizados e que possuíam em seu histórico os exames laboratoriais de tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e contagem de plaquetas.

Para realização do TP e do TTPA, as amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular, com auxílio de tubos com citrato de sódio a 3,2% (proporção 9:1). Após, foram centrifugadas por 10 minutos a 2.500 rpm, sendo o plasma analisado imediatamente. As mensurações do TP e TTPa foram realizadas através do coagulômetro semiautomático (*HumaClot Junior Human*) pelo método de coagulação que utiliza o sistema de detecção de viscosidade, conforme instruções do fabricante.

A contagem das plaquetas foi efetuada através de analisador hematológico ProCyte Dx (Idexx Laboratories), que utiliza o método de citometria de fluxo. Todas as contagens foram conferidas em esfregaços sanguíneos corados com Panótico Rápido por estimativa por campo de 100x. Os animais foram considerados trombocitopênicos quando apresentavam contagem de plaquetas menor que 200.000 plaquetas/ $\mu$ L (JAIN, 1993). Os critérios de exclusão do estudo foram amostras que continham agregação plaquetária detectada pelo analisador hematológico ou detectada no esfregaço sanguíneo e no tubo, exames com preenchimento incompleto ou sem resultados e exames de TP, TTPA e contagem de plaquetas com um intervalo superior a dois dias entre os exames.

Os pacientes incluídos no estudo foram classificados inicialmente em oito grupos conforme o tipo de alteração que apresentavam nos exames laboratoriais utilizados, mas não houveram pacientes que apresentaram concomitantemente trombocitopenia e TP prolongado

(Tabela 1). O Teste Exato de Fisher foi utilizado para verificar a associação da variável óbitos com a presença ou não de alterações nos exames laboratoriais, consideradas fatores de risco. O nível de significância escolhido foi  $p < 0,05$ , e o teste foi efetuado através do *software* IBM SPSS *Statistics*, versão 22.0 (IBM Corp. Armonk, 2013). O risco relativo (RR) foi calculado através da equação  $RR = IC_{\text{expostos}} / IC_{\text{não expostos}}$ , onde IC representa incidência cumulativa.

Tabela 1 – Classificação em grupos conforme alterações nos exames laboratoriais utilizados

<b>Grupo</b>	<b>Total</b>	<b>Óbitos</b>	<b>Incidência Cumulativa de Óbitos %</b>
1 Sem alterações no perfil hemostático	93	9	9,677419355
2 Trombocitopenia	28	6	21,42857143
3 TP prolongado	1	0	0
4 TTPA prolongado	35	8	22,85714286
5 Trombocitopenia e TTPA prolongado	27	8	29,62962963
6 TP e TTPA prolongado	14	7	50
7 Trombocitopenia, TP e TTPA prolongados	20	8	40

Fonte: o próprio autor

#### 4 RESULTADOS

Um total de 353 caninos foram selecionados, e 135 pacientes foram excluídos, 66 apresentavam dados incompletos, 38 apresentavam agregação plaquetária, e 31 possuíam contagem de plaquetas com intervalo superior a dois dias, considerando o tempo de produção plaquetária sendo que um intervalo superior poderia representar momentos diferentes, restando 218 pacientes um e 16 anos. Os grupos cinco, seis e sete apresentaram uma diferença significativa na proporção de óbitos (Tabela 2), e foi verificado 3,061; 5,17 e 4,13 vezes mais risco de óbito quando comparados aos pacientes do grupo um, que não apresentavam alterações hemostáticas.

Tabela 2– Proporção de óbitos dos grupos em relação aos pacientes sem alterações

<b>Grupos</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
1	-	0.1105	1	0.0764	1	0.0233	0.0008	0.0022
2	-	-	1	1	1	0.5472	0.0821	0.2061
3	-	-	-	1	1	1	1	1
4	-	-	-	-	1	0.5718	0.089	0.2235
5	-	-	-	-	-	-	0.3061	0.5408
6	-	-	-	-	-	-	-	0.7282
7	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: o próprio autor

## **5. DISCUSSÃO**

### **5.1 Trombocitopenia**

O grupo dois, os quais tinham animais somente com trombocitopenia (média de  $70,7 \times 10^3$  plaquetas/ $\mu\text{L}$ ), e teve uma incidência acumulada de óbitos de 21%. A trombocitopenia é uma condição laboratorial observada quando a concentração de plaquetas está abaixo do valor de referência estabelecido para a espécie na ausência de agregados plaquetários. É o distúrbio hemostático adquirido mais comum em cães (PRATER e TVEDTEN, 2004). Algumas raças de cães saudáveis como Greyhounds, Shiba Inu e Akitas tem concentrações plaquetárias abaixo dos valores de referência (HOHENHAUS e WHITE, 2012).

A trombocitopenia indica um estado patológico e um problema diagnóstico, mas não uma doença, sua presença pode sugerir doenças ou distúrbios específicos. O principal significado é a potencialização de sangramentos quando a quantidade de plaquetas está acentuadamente reduzida, podendo agravar o estado clínico e levar o paciente ao óbito. Sinais clínicos que podem acompanhar trombocitopenia grave ( $<20.000$  plaquetas/ $\mu\text{L}$ ) são equimoses e petéquias. Sangramento de mucosas (epistaxe, melena, hematoquezia), hematuria, hifema ou hemorragia prolongada após traumatismo intencional (ex. venopunção) ou acidental são comuns. Ao passo que alguns cães podem não sangrar com uma contagem de  $20.000$  plaquetas/ $\mu\text{L}$ , há outros que podem apresentar os sinais clínicos de sangramento com  $30.000$  a  $50.000/\mu\text{L}$ . Fatores que contribuem com a presença ou ausência de sangramento são o tamanho e funcionamento plaquetário, o próprio vaso sanguíneo, suporte endotelial, concentração de

FPD (produtos de degradação de fibrina), fatores de coagulação e gravidade do desafio para os mecanismos hemostáticos. (PRATER e TVEDTEN, 2004; BAKER, 2012).

Muitas doenças estão relacionadas a trombocitopenia, que nesse estudo não foram investigadas. E há mecanismos patogênicos limitados a serem considerados. As três principais causas de trombocitopenia são destruição, defeitos na produção primária na medula óssea e consumo (PRATER e TVEDTEN, 2004).

As causas e condições que causam trombocitopenia estão organizadas na tabela 3.

Tabela 3- Causas e condições que causam trombocitopenia

<b>Consumo/ Destruição acelerada</b>	<b>Sequestro aumentado do local de armazenamento</b>	<b>Produção diminuída</b>	<b>Causas mistas/ idiopáticas</b>
CID (coagulação intravascular disseminada)	Patologia esplênica	Infecções	Infecções, principalmente envolvendo MO
Trombose	Anafilaxia/endotoxemia	Patologias da medula óssea (MO)	Neoplasia não leucêmica
Hemorragia aguda grave	Drogas	Hematopoiese cíclica	Septicemia não bacteriana/endotoxemia
TIM (trombocitopenia imunomediada)	Hipoadrenocorticismismo	Toxicidade de drogas/substâncias químicas	Inflamação evidente ou necrose
Induzida por drogas	Hipotermia intensa	Deficiência nutricional grave/deficiência grave de ferro	Toxicidade (Uremia/drogas)
Vasculite/endocardite	Infecção		Anafilaxia
Infecção (virais, bacterianas)			

Fonte: Modificada de WALKER (2009, p.410) e STOCKHAM e SCOTT (2011, p.197).

Em um estudo retrospectivo, 871 cães com trombocitopenia foram divididos em grupos de acordo com a causa: trombocitopenia imunomediada (49; 5.6%), trombocitopenia causada por CID (52; 6.0%) trombocitopenia de causas mistas (222; 25.5%), trombocitopenia associada a neoplasias (244; 28%) e trombocitopenia inflamatória/infecciosa (304; 34.9 %). Os cães com trombocitopenia imunomediada e trombocitopenia causada por CID tinham contagens

plaquetárias significativamente menores que os cães das outras categorias (BOTSCH *et al.*, 2009).

A importância clínica da trombocitopenia não deve ser subestimada, visto que em torno de 90% das doenças hemorrágicas em cães e gatos são resultado de distúrbios plaquetários (anormalidades na função ou contagem) (REBAR, 2004).

É preciso ter a ideia de alguns fatores que possam indicar uma tendência a um evento hemorrágico e, portanto, a causa, como frequência e duração dos episódios, localização da hemorragia, medicamentos usados, histórico familiar, raça, idade, sexo, entre outros (LEONEL *et al.*, 2008). Não pode se afirmar com certeza, com os dados levantados que a trombocitopenia foi um fator que levou os animais ao óbito, devido a variação de valores, fatores envolvidos e causas que não foram investigadas no presente estudo. Nesses animais o óbito pode estar relacionado com complicações da causa base.

## **5.2 Prolongamento dos tempos de TP, TPPA e trombocitopenia**

Um aumento isolado de TP do grupo três ocasionou um caso sem óbito, e nenhum paciente apresentou aumento de TP e trombocitopenia. Esse aumento isolado de TP pode indicar uma redução no Fator VII da via extrínseca, podendo ser resultante de um distúrbio hereditária, associada às raças Beagle, Malamute do Alasca, Schnauzer miniatura entre outras, mas o paciente era um canino da raça Sharpei. Também pode ocorrer secundariamente a uma intoxicação por rodenticidas cumarínicos, que fazem antagonismo com a Vitamina K como mecanismo de ação). Quando identificada na fase inicial, já que o FVII é um fator dependente de Vitamina K e com meia vida curta. Os sinais clínicos dessa deficiência são brandos, e são casos raríssimos que desenvolvem tendências a hemorragias graves (BUSH, 2004; MISCHKE, 2012).

Em humanos, o TP se tornou uma ferramenta diária para o controle de doença hepática, especialmente como indicadores de risco de sangramento. Essa relação direta entre sangramento e aumento de TP só funciona em casos de deficiência grave de Vitamina K, devido à complexidade da diátese hemorrágica em pacientes hepatopatas, que é afetada por processos pró e anticoagulantes. Além disso, a hemostasia nesses pacientes é muito instável e podem variar no dia-a-dia e de hora em hora dependendo dos efeitos da infecção secundária, da falência renal, e da hipertensão porta hepática, que são comuns. Pesquisas mostram que o TP é um bom fator para monitorar a eficiência do tratamento com pró-coagulantes, mas não como fator para

avaliar risco de sangramento (LIPPI *et al.*, 2007). Todos esses fatores podem corroborar com o fato de não ter aparecido mais casos com essa alteração, e nenhum óbito.

A CID (Coagulação Intravascular Disseminada) é uma síndrome grave e elevada mortalidade em humanos e animais. Essa síndrome envolve uma ativação descontrolada da cascata de coagulação, com o acontecimento de trombozes difusas e fibrinólise secundária nos pequenos vasos e falência múltipla de órgãos. Durante a fase de coagulação intravascular excessiva, plaquetas e fatores são consumidos, levando a trombocitopenia e inativação e depleção de fatores de coagulação. Eventos trombóticos e hemorrágicos são algumas das complicações da CID. Dependendo da taxa de ativação do sistema hemostático, a CID pode estar presente tanto em uma forma hiperaguda levando ao óbito rapidamente, ou em uma forma crônica sem risco de eventos hemorrágicos (LEVI *et al.*, 1999; COUTO, 1999; FELDMAN; KIRBY; CALDIN, 2000).

A CID não é uma condição primária, mas sim uma complicação secundária a diversas doenças, como infecções bacterianas sistêmicas/sepses, infecções virais (parvovirose, hepatite infecciosa canina), infecções parasitárias e Rickettsioses (Babesiose, Erliquiose, Febre Maculosa, Leishmaniose, Espirocercose canina), neoplasias (tumores sólidos, leucemia linfóide, doenças mieloproliferativas, linfoma, hemangiossarcoma), distúrbios imunológicos (anemia hemolítica imunomediada, reação transfusional, reação a transplante), distúrbios vasculares (aneurisma aórtico, vasculite, hemangioma), lesão tecidual massiva (hipertermia/insolação, queimaduras, traumatismo crânio encefálico, dilatação volvo-gástrica, cirurgias e traumas extensos), reação a toxinas (picada de abelha, picada de cobra), e outros como pancreatite, policitemia e falência hepática (BRUCHIM; AROCH; SARAGUSTY, 2008).

Muitas doenças sistêmicas associadas com a inflamação têm sido associadas com CID em cães e gatos (LEVI; CATE, 1999; STOCKHAUS *et al.*, 1999). Estudos indicaram que cães com tumores malignos tiveram uma ocorrência da síndrome de 9 a 12%, sendo a porcentagem mais alta relacionada a presença de tumores sólidos. Cães com hemangiossarcoma, adenocarcinoma pulmonar e carcinoma de glândula mamária tiveram uma maior ocorrência de CID quando comparados com outros tipos de tumores malignos. Os resultados sugeriram que deve se tomar um cuidado especial em relação a CID em pacientes caninos com neoplasias malignas (MARUYAMA *et al.*, 2004).

Não há um único teste laboratorial que possa indicar a presença dessa condição, sendo necessário avaliar o histórico e sinais clínicos concomitantemente com os exames complementares. É necessário no mínimo três testes laboratoriais de hemostasia alterados para que o diagnóstico possa ser realizado (WADA *et al.*, 2003). Pode-se incluir nos testes contagem

plaquetária, TP, TTPa, concentração de fibrinogênio, PDFs, e níveis do Dímero D. Estudos que avaliavam os testes diagnósticos de CID em 205 cães, e outro estudo com 100 cães, demonstraram que essa combinação de testes tiveram uma acurácia de 100%, com sensibilidade de 73% e especificidade de 97% em um dos estudos e em outro com 90% de sensibilidade e 90% de especificidade para o diagnóstico correto, e propuseram um modelo parecido com o humano (WIINBERG *et al.*, 2010; MACHIDA *et al.*, 2010). Em humanos, a International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) desenvolveu os primeiros modelos simples de diagnóstico de CID. Eles também têm sido baseados nos testes hemostáticos (TP, TTPA, Dímero D, contagem de plaquetas e fibrinogênio), e sua acurácia diagnóstica já é comprovada (BAKHTIARI *et al.*, 2004; TOH; DOWNEY, 2005; TOH; HOOTS, 2007).

Em diversos estudos de CID em cães, a trombocitopenia foi o distúrbio mais detectado (80% a 100% dos casos), TP e TTPA prolongados ( $\geq 25\%$  que o valor de referência) foram identificados em 42% a 82%, e 67% a 82% dos casos, respectivamente. Valores de PDF aumentado e Antitrombina (AT) diminuídas, foram detectadas em 64% a 92% e 67% a 69% dos cães com CID, respectivamente (MADDEN; WARD; MARLAR, 1987; BATEMAN; MATHEWS; ABRAMS-OGG, 1998; DIEHL *et al.*, 2000).

Em um novo estudo retrospectivo, 804 casos de CID em cães foram classificados segundo quatro critérios e a capacidade deles de prever o óbito. Foi concluído que o critério baseado nas anormalidades laboratoriais era o mais capaz de identificar a doença clínica e a mortalidade. A mortalidade dos cães diagnosticados segundo esse método foi de 62.5% (GOGGS; MASTROCCO; BROOKS, 2018).

No presente estudo não se pode afirmar com certeza que os cães possuíam CID, mas podem ser compatíveis com essa síndrome os cães dos grupos quatro, que só possuíam prolongamento do TTPA, o grupo cinco (Trombocitopenia e TTPA prolongados), grupo seis (TP e TTPA prolongados) e grupo sete (Trombocitopenia, TP e TTPA prolongados). A variação nas incidências cumulativas e risco de óbitos em relação ao grupo um, dos grupos cinco, seis e sete de 3,061, 5,17 e 4,1, respectivamente, acontece devido aos diversos mecanismos e apresentações da CID discutidos, além das diferentes causas e complicações.

O grupo seis apresentava alterações em TP e TTPA sem trombocitopenia, e o grupo sete com trombocitopenia. A falência hepática também é uma das condições compatíveis com essas alterações. Doenças hepáticas causam alterações em vários mecanismos da hemostasia, incluindo em plaquetas e reatividade de células endoteliais, produção e função de proteínas pró e anticoagulantes, desregulação da fibrinólise, e complicações vindas da hipertensão portal e esplenomegalia. Essas alterações agem como forças opostas pró e anticoagulantes, resultando

em risco de sangramento variável, isso acontece porque a maior parte das etapas associadas a coagulação e fibrinólise estão relacionados com o fígado, e por isso ele é tão importante para manter esse equilíbrio. É ele que produz a maioria dos fatores de coagulação, e também produz os anticoagulantes como a antitrombina (BROOKS; LAFORCADE, 2010).

Hemorragias graves são observadas em animais com falência hepática aguda ou em estágio terminal, ou naqueles que tiverem CID concomitante, mas os animais com doenças hepatobiliares apresentam uma grande variedade de sinais relacionados a coagulopatia, como sangramento espontâneo e prolongamento dos testes de hemostasia. O diagnóstico correto das doenças hepatobiliares através de exames de coagulação é tão importante pois permitem diferenciar doença hepática aguda da falência hepática aguda, que carrega um prognóstico pior. Mas as doenças relacionadas ao fígado também incluem qualquer processo que cause danos aos hepatócitos, colestase ou ambos. Isso inclui hipóxia, toxemias, inflamação, trauma mecânico, inflamação, doenças metabólicas, obstrução intra ou extra-hepática dos ductos biliares. Além disso a obstrução do fluxo biliar pode provocar em uma absorção ineficiente de Vitamina K levando a função diminuída dos fatores de coagulação dependentes de Vitamina K (Fator II, VII, IV e X) também (BROOKS; LAFORCADE, 2010; ALLISON, 2012; WEBSTER, 2017). Um estudo com cães que possuíam Shunt portossistêmico congênito, demonstrou que há um prolongamento significativo de TTPA, resultado de uma síntese inadequada de fatores relacionados com a via intrínseca devido ao desvio de sangue do fígado (NILES *et al.*, 2001).

Outras formas de doenças hepáticas podem causar tendências mais de sangramento mais brandas, apesar de ainda assim apresentarem risco cirúrgico para os animais que será submetidos a biopsia ou cirurgia hepatobiliar. Prolongação dos testes de hemostasia (TP, TTPA), hipofibrogenemia indicam um grande risco de eventos hemorrágicos espontâneos ou pós cirúrgicos, e no geral são indícios de um prognóstico ruim. Entretanto, o fato destes testes não estarem alterados não exclui o risco de sangramentos (BROOKS e LAFORCADE, 2010). Novos testes realizados a beira do leito em pacientes humanos internados, que testam a hemostasia primária e secundária têm sido estudados para monitorar o risco de sangramento e prognóstico dos pacientes, como a tromboelastografia e o potencial endógeno de trombina (HERTFELDER *et al.*, 2005; GANTER; HOFER, 2008).

É possível haver trombocitopenia concomitante ao prolongamento de TP e TTPA na falência hepática, como observado no grupo sete. A esplenomegalia tem sido descrita como uma das causas para a trombocitopenia nesses casos, mas ela pode ser branda e não causar alterações significativas para o paciente (PECK-RADOSAVLJEVIC, 2000). O que pode explicar o fato do grupo sete ter a maior proporção de óbitos comparados com o grupo um

(cinco vezes mais), além da maior incidência cumulativa de óbito (50%), mesmo sem trombocitopenia. Além de que a trombocitopenia pode não ser clinicamente importante. Em humanos a trombocitopenia também pode ser causada por supressão da medula óssea por substâncias tóxicas (como álcool ou infecção viral), ou imunomediada. A trombopoietina tem um papel fundamental, já que ela é produzida majoritariamente pelo fígado e vai estar reduzida se o órgão estiver muito comprometido, isso leva a diminuição da trombopoiese na medula e consequentemente trombocitopenia em pacientes com doença hepática avançada (PECK-RADOSAVLJEVIC, 2017).

Em um estudo de 2006 comparando 52 cães saudáveis com 52 cães com diversas doenças hepáticas (hepatite, tumores e degeneração) demonstrou que cães com tumores tiveram trombocitopenia em 50% dos casos, cães com degeneração apresentaram trombocitose e cães com hepatite não demonstraram alterações (NEUMANN, 2006).

O grande risco de óbito nos casos de falência hepática está relacionado com variedade de alterações no sistema hemostático que isso causa, além das complicações relacionadas com a doença em si, como peritonite e sepse (TAPPER; PARIKH, 2018).

Além da CID e da falência hepática, o perfil apresentado pelo Grupo seis também pode ser compatível com distúrbios relacionados a Vitamina K, que é uma vitamina lipossolúvel essencial para o processamento dos fatores de coagulação do grupo da protrombina (Fatores II, VII, IX e X). Sua deficiência é uma causa comum de coagulopatias, e leva ao sangramento excessivo devido a falha em produzir o coágulo de fibrina. Os sinais clínicos de sangramento dependem da duração e da severidade da deficiência e incluem pequenos sangramentos, hematomas espontâneos, hemorragias intracavitárias e morte devido à perda de sangue, choque hemorrágico e comprometimento do sistema nervoso ou respiratório. Dentre as causas está a absorção e reciclagem inadequada pelo fígado, deficiência alimentar, obstrução biliar, administração crônica de antibióticos, doença hemorrágica do recém-nascido. A intoxicação por rodenticida (varfarina) é a causa mais comum de deficiência aguda e severa de Vitamina K em pequenos animais. Nos testes laboratoriais é possível ver a prolongação do TP e TTPA (BROOKS; LAFORCADE, 2010).

Todos esses distúrbios graves com alto risco de óbito causam prolongamento do TP e TTPA, corroborando com os resultados do presente estudo, que demonstra o grupo seis como sendo o grupo com maior risco de óbito comparado ao grupo um, e a maior incidência cumulativa de óbitos.

Somente o TTPA prolongado, como apresentado no grupo quatro, pode significar uma coagulopatia hereditária relacionada a deficiência de fatores intrínsecos (VIII e IX, Hemofilia

A e B, respectivamente) e de fatores de contato (XI e XII). A tendência a sangramentos relacionada a essas deficiências vai depender do grau e do papel fisiológico dos fatores na formação do coágulo. As hemofilias A e B acontecem devido a uma mutação nos genes de coagulação FVIII e FIX. Elas têm diversas apresentações, desde formas que não causam sangramentos até pacientes que apresentam alto risco de morte devido a eventos hemorrágicos. Sinais de hemofilia incluem hemoartrose, hematomas intramusculares subcutâneos, pequenos sangramentos espontâneos de gengiva, ou sangramentos pós cirúrgicos (BROOKS, 2010).

Todas as outras deficiências hereditárias dos fatores de coagulação identificados em animais (fibrinogênio, FII, VII, X, XI, XII, e fatores de contato) são menos comuns que hemofilia e estão restritas a grupos de raças específicas e raramente apresentam risco de sangramento ou eventos hemorrágicos (BROOKS, 2010; STOCKHAM, 2012).

## 5 CONCLUSÃO

Foi possível concluir no presente estudo, que os distúrbios relacionados com a hemostasia são muito importantes para definir o prognóstico e o tratamento adequado, e um perfil hemostático completo pode direcionar para o diagnóstico correto. Devido ao estudo ter analisado apenas três testes laboratoriais de hemostasia sem o histórico clínico dos pacientes caninos, não foi possível identificar com certeza as causas primárias ou disfunções específicas relacionadas com as alterações laboratoriais. Entretanto foi possível observar um risco de óbito significativamente aumentado naqueles que possuíam um, dois ou três parâmetros alterados em relação aos cães saudáveis, podendo ser um marcador prognóstico de óbito. Os óbitos podem ter ocorrido por complicações decorrentes da causa primária, ou como consequência dos distúrbios hemostáticos, que predispõe o paciente a eventos hemorrágicos. É preciso mais estudos correlacionando às causas, e com mais testes hemostáticos. Nem todos os laboratórios são capazes de realizar um perfil hemostático mais completo, sendo os testes avaliados no presente estudo bons indicadores hemostáticos.

## REFERÊNCIAS

- ALISSON, R.W. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2. ed. USA: Wiley-Blackwell, 2012, chap.26, p. 465.
- AMMOLLO, C.T. et al. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. **J. Thromb. Haemost**, v.9, p.1795–1803, Sep 2011.
- ARRUDA V. R; HIGH K. A. . In: LONGO D.L. **Hematologia e Oncologia de Harrison**. 2. ed. Rio Grande do Sul: AMGH, 2015, cap. 20, p.194
- BAKER, D.C. Diagnosis of disorders of hemostasis. In: THRALL, M.A. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2. ed. USA: Wiley-Blackwell, 2012, chap.16, p. 185-200.
- BAKHTIARI, K. et al. Prospective validation of the International Society of Thrombosis and Haemostasis scoring system for disseminated intravascular coagulation. **Crit Care Med**, v. 32, n.12, p. 2416-2421, 2004.
- BATEMAN S. W.; MATHEWS K. A.; ABRAMS-OGG A. C. G. Disseminated intravascular coagulation in dogs: review of the literature. **J Vet. Emerg. Crit. Care.**, v. 8, n. 1, p. 29-45, 1998.
- BAUGH R. J.; BROZE G. J.; KRISHNASWAMY S. Regulation of extrinsic pathway factor Xa formation by tissue factor pathway inhibitor. **J Biol. Chem.**, v. 273, p. 4378-4386, 1998.
- BOTSCH, V. et al. Retrospective study of 871 dogs with thrombocytopenia. **Vet. Rec.**, v. 164, n. 21, p. 647-651, May 2009.
- BROOKS, M. B. Hereditary Coagulopathies. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. USA: Willey-Blackwell, 2010. Chap. 86, p. 661-667.
- BROOKS, M. B.; LAFORCADE, A. Acquired Coagulopathies. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. USA: Willey-Blackwell, 2010. Chap. 85, p. 654-660.
- BRUCHIM, Y.; AROCH I.; SARAGUSTY J. Disseminated Intravascular Coagulation. **COMPENDIUM**, v. 30, n. 10, Oct 2008.
- BUSH, B. M. Plaquetas (trombócitos). In:\_\_\_\_\_. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. 1. ed. São Paulo: Rooca, 2004, cap. 4-5, p.155 e 158.
- CARLOS M. M. L., FREITAS P. D. F. S. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinaria Brasileira**, v.1, n.2, p.49-55, 2007.
- CORNELL UNIVERSITY COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE. Disponível em <<http://www.eclinpath.com/>> Acesso em: 22 nov. 2018.
- COUTO C.G. Disseminated intravascular coagulation in dogs and cats. **Vet Med**, p. 547-553, 1999.

DAVIS, R.P.; MILLER-DOREY, S.; JENNE, C.N. Platelets and coagulation in infection. **Clin. Transl. Immunol.**, v.5, Jul 2016.

DE GOPEGUI, R.R., FELDMAN, B.F. Use of blood and blood components in canine and feline patients with hemostatic disorders. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.25, p.1387-1402, 1995.

DIEHL K.A. et al. Alterations in hemostasis associated with hyperthermia in a canine model. **Am J Hematol**, v. 64, n. 4, p. 262-270, 2000.

FELDMAN B.F.; KIRBY R.; CALDIN M. Recognition and treatment of disseminated intravascular coagulation. In: Bonagura J.D. **Kirk's Current Veterinary Therapy XIII: Small Animal Practice**. 13. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2000, p. 190-194.

GANTER M.T.;HOFER C.K. Coagulation monitoring: current techniques and clinical use of viscoelastic point-of-care coagulation devices. **Anesth Analg**, v. 106, n. 5, p. 366-75, May 2008.

GOGGS R.; MASTROCCO A.; BROOKS M. B. Retrospective evaluation of 4 methods for outcome prediction in overt disseminated intravascular coagulation in dogs (2009–2014): 804 cases. **J Vet Emerg Crit Care**, v. 28, n. 6, p. 541-550, Nov/Dec 2018.

GREGCO E. et al. Platelets and Multi-Organ Failure in Sepsis. **International Journal of Molecular Science**, v.18, p. 1-10, Oct 2017.

GUYTON, A. C; HALL J. E..**Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica**. 13 ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2002.

HARVEY, J.W. Evaluation of hemostasis: Coagulation and Platelet Disorders. In:\_\_\_\_\_; **Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas**. 1. ed. USA: Elsevier Saunders, 2012. Chap. 7, p. 191-231.

HERRING, J.; MCMICHAEL, M. Diagnostic approach to small animal bleeding disorders. **Topics in companion animal medicine**, v. 27, n. 2, p. 73-80, Maio 2012.

HERTFELDER H.J. et al. Perioperative monitoring of primary and secondary hemostasis in coronary artery bypass grafting. **Semin Thromb Hemost**, v. 31, p. 426-440, 2005.

HOFFMAN M. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. **Blood Ver**, v. 17, n.1, p. 51-55, 2003.

HOHENHAUS A.;WHITE C. In: DAY M. J.; KOHN B.; **BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**. 2. ed. ENG: BSAVA, 2012. Chap. 23, p. 201-215.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 1. ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 1993.

LATIMER K.S. Hemostasis. In:\_\_\_\_\_. **Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. 5. Ed. USA: Willey-Blackwell, 2011, cap. 4, p. 123 -131.

- LEONEL R. A. B., et al. Trombocitopenia em animais domésticos. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária FAMED/FAEF**, v. 6, n. 11, Jul 2008.
- LEVI M. et al. Disseminated intravascular coagulation. **Thromb Haemost**, v. 82, n. 2, p.695-705, 1999.
- LEVI M., CATE H. Disseminated intravascular coagulation. **N Engl J Med**, v. 341, n. 8, p. 586-592, 1999.
- LIPPI, G., FRANCHINI M., GUIDI G. C. Diagnostic approach to inherited bleeding disorders. **Clin Chem Lab Med**, v. 45, n. 1, p. 2-12, 2007.
- LOURENCO, D. M. Avaliação laboratorial da hemostasia. In: Zago M. A.; FALCÃO R.P.; PASQUINI R. **Hematologia: Fundamentos e prática**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001, cap. 60, p. 749-755
- MACHIDA T. et al. Clinical Use of D-Dimer Measurement for the Diagnosis of Disseminated Intravascular Coagulation in Dogs. **J. Vet. Med. Sci**, v. 72, n. 10, p. 1301–1306, May 2010.
- MADDEN R. M.; WARD M.; MARLAR R.A. Protein C activity levels in endotoxininduced disseminated intravascular coagulation in a dog model. **Thromb Res**, v. 55, n. 3, p. 297-307, 1987.
- MALLET S. V.; ARMSTRONG M. Point-of-care monitoring of haemostasis. **Anaesthesia**, v. 70, p. 73-77, Aug 2015.
- MANN K. G.; KRISHNASWAMY S.; LAYSON J.H. Surface-dependent hemostasis. **Semin Hematol**, v.29, p.213-226, 1992.
- MARUYAMA H. et al. The Incidence of Disseminated Intravascular Coagulation in Dogs with Malignant Tumor. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 66, p. 573–575, Jun 2004.
- MAUREEN M. New models of hemostasis. **Topics in Compan An Med**, v. 27, p. 40-45, 2012.
- MISCHKE R. In: DAY M. J.; KOHN B.; **BSAVA Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**. 2. ed. ENG: BSAVA, 2012. Chap. 21-22-25, p. 182-200.
- MORISSEY, J. H. et al. Tissue factor/factor VIIa complex: role on the membrane surface. **Throm Res**, v. 129, n.2, p. 8-10, 2012.
- MORISSEY, J. H. Plasma factor viia: measurement and potential clinical significance. **Haemostasis**, v. 26, n.1, p. 66-71, 1996.
- MOROZ L. R. et al. Uso de crioprecipitado em cão com hemorragia aguda: relato de caso. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 22, n. 3-4, p. 137-141, jul./dez 2015.
- NEUMANN, S. Effects of different liver diseases on the platelet count in dogs. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 113, n. 6, p. 224-227, Jun 2006.

NILES J. D.; WILLIAMS J. M.; CRIPPS P.J. Hemostatic Profiles in 39 Dogs With Congenital Portosystemic Shunts. **Veterinary Surgery**, v. 30, n.1, p.97-104, Fev 2001.

PALTA, S.; SAROA, R.; PALTA, A. Overview of the coagulation system. **Indian Journal of Anaesthesia**, India, v.58, n.5, p.515-523, 2014.

PECK-RADOSAVLJEVIC M. Thrombocytopenia in chronic liver disease. **Liver International**, v.37, p. 778-793, Sep 2017.

PECK-RADOSAVLJEVIC M.. Thrombocytopenia in liver disease. **Can J Gastroenterol**, v.14, p.60-66, Nov 2000.

PETERSON J. L.; COUTO C. G.; WELLRNAN M. L. Hemostatic Disorders in Cats: A Retrospective Study and Review of the Literature. **J. Vet Intern Med**, v.9, n. 5, p. 298-303, sep 1995.

PRATER R.; TVEDTEN H. Hemostatic Abnormalities. In: WILLARD M. D.;TVEDTEN H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 4. ed. USA: Elsevier Saunders, 2004. Cap. 5, p. 92-112.

REBAR, A.H. Platelets in health and disease. In: \_\_\_\_\_.**Hemogram interpretation for dogs and cats**. 2. ed. USA: Gloyd Groud, 2004. p 27-30.

RUSSEL, K.E. Platelet Kinetics and Laboratory Evaluation of Thrombocytopenia. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. USA: Willey-Blackwell, 2010. Chap. 77, p. 576-583.

SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y. **Coagulação – Visão laboratorial da hemostasia primaria e secundária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Reinventer, 2006.

SMITH, S. A. Overview of hemostasis. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Eds). **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. USA: Willey-Blackwell, 2010. Chap. 84, p. 635-653.

STOCKHAM S. L.; SCOTT, M. A. Hemostasia. In: \_\_\_\_\_. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

STOCKHAUS C. et al. Correlation of haemostatic abnormalities with tumour stage and characteristics in dogs with mammary carcinoma. **J Small Anim Pract**, v. 40, n.7, p326-332, 1999.

STOKOL T. In: VILLIERS E.; RISTIC J.; **BSAVA Manual of canine and feline clinical pathology**. 3. ed. ENG: BSAVA, 2016. Chap. 6, p. 94-122.

SWENSON M.J. Circulação sanguínea e sistema cardiovascular. In: REECE W.O. **Dukes - Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

TAKAHIRA R.K. Hemostáticos, anticoagulantes e antianêmicos. In: Andrade SF. **Manual de terapêutica veterinária**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008, p.748-57.

TANAKA K.A.;KEY N.S.;LEVY J.H. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. **Anesth Anag**, v. 108, p.1433-1446, 2009.

TAPPER, E. B.; PARIKH N. D. Mortality due to cirrhosis and liver cancer in the United States, 1999-2016: observational study. **BMJ**, v. 362, Jul 2018.

TOH C.H; DOWNEY C. Back to the future: testing in disseminated intravascular coagulation. **Blood Coagulation Fibrinolysis**, v. 16, n. 8, p. 535-542, 2005.

TOH C.H.; HOOTS W. K. The scoring system of the Scientific and Standardisation Committee on Disseminated Intravascular Coagulation of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: a 5-year overview. **J Thromb Haemost.**, v. 5, n. 3, p. 604-606, 2006.

TRIPODI A. et al. Review article: the prothrombin time test as a measure of bleeding risk and prognosis in liver disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 26, p. 141–148, Jul 2007.

VERSTEEG, H. H. et al. New fundamentals in hemostasis. **Physiol Rev**, v.93, n.1, p.327-58, 2013.

WADA H. et al. Comparison of diagnostic criteria for disseminated intravascular coagulation (DIC): diagnostic criteria of the International Society of Thrombosis and Hemostasis (ISTH) and of the Japanese Ministry of Health and Welfare for overt DIC. **Am J Hematol.**, v. 74, n. 1, p. 17-22, 2003.

WALKER. Esfregaço de sangue periférico. In: COWELL R. L. et al. **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3. ed. São Paulo: MedVet Ltda, 2009, cap.26, p.397-410.

WEBSTER C. R.L. Hemostatic Disorders Associated with Hepatobiliary Disease. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 47, n. 3, May 2017.

WIINBERG B. et al. Development of a model based scoring system for diagnosis of canine disseminated intravascular coagulation with independent assessment of sensitivity and specificity. **The Veterinary Journal**, v. 185, p. 292-298, 2010.