

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DISTÚRBIOS DA HEMOSTASIA EM CÃES E GATOS**

**Autor: Magnus Larruscaim Dalmolin**

**PORTO ALEGRE**

**2010/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**DISTÚRBIOS DA HEMOSTASIA EM CÃES E GATOS**

**Autor: Magnus Larruscaim Dalmolin**

**Monografia apresentada à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial para a  
obtenção da Graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientador: Rosemari Teresinha de Oliveira**

**Co-orientador: Simone Tostes de Oliveira**

**PORTO ALEGRE**

**2010/1**

D148d Dalmolin, Magnus Larruscaim

Distúrbios da hemostasia em cães e gatos / Magnus Larruscaim Dalmolin - Porto Alegre: UFRGS, 2010/1.

79f.; il. – Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Comissão de Estágio, Porto Alegre, BR-RS, 2010/1. Rosemari Teresinha de Oliveira, Orient. ; Simone Tostes de Oliveira, Co-orient.

1. Hemostasia 2. Trombocitopenia 3. Coagulação I. Oliveira, Rosemari Teresinha de, Orient. II. Oliveira, Simone Tostes de, Co-orient. III. Título.

CDD 619

Catálogo na fonte  
Preparada pela Biblioteca da Faculdade de  
Veterinária da UFRGS

## **AGRADECIMENTOS**

Aqui, em poucas palavras, agradeço única e exclusivamente ao meu cachorro Bobi, que me serviu como inspiração para a realização deste trabalho e por ser um companheirinho de quatro patas incomparável àqueles que possuem duas. Obrigado por cruzar o meu caminho, “Bobifílico”.

## RESUMO

A hemostasia é um processo fisiológico que tem como objetivos a manutenção da integridade e do fluxo vascular e o controle da hemorragia e da trombose. Os distúrbios da hemostasia são muito comuns em pequenos animais, e consistem em uma série de alterações patológicas que levam o indivíduo a apresentar hemorragias ou trombose. Estas alterações podem ser congênitas ou adquiridas, e os sinais clínicos desenvolvidos durante a doença podem indicar se é uma deficiência na hemostasia primária (formação do tampão plaquetário) ou secundária (cascata de coagulação). Os distúrbios hemorrágicos primários são caracterizados principalmente por hemorragias de mucosas, petéquias e equimoses, e são causados pelas trombocitopenias, trombocitopatias e pela doença de von Willebrand. Por outro lado, as coagulopatias apresentam sinais hemorrágicos como hematomas e hemorragias profundas. Além disso, distúrbios da hemostasia podem ser causados também por deficiências vasculares, hepáticas e renais. A trombose e o tromboembolismo são decorrentes de falhas na inibição da coagulação e no processo final da hemostasia, a fibrinólise. A coagulação intravascular disseminada é uma síndrome complexa que inclui alterações em todas as etapas da coagulação. A disponibilidade de avaliação laboratorial da hemostasia é muito importante para o diagnóstico e tratamento destas doenças. Outra ferramenta muito importante para a manutenção destes pacientes é o acesso à medicina transfusional, que em alguns casos fornece um tratamento de suporte, e em outros casos, consiste no tratamento da doença.

**Palavras-chave:** hemostasia, coagulação, hemorragia, coagulopatia, trombocitopenia.

## ABSTRACT

Hemostasis is a fisiologic process that aims to maintenance the vascular integrity, the blood flow and control hemorrhage and thrombosis. The disorders of hemostasis are very common in small animal practice, and consist in a range of pathologic disturbances that leads these patients to hemorrhages or thrombosis. The disorders may be inherited or acquired, and tha clinical signs may help to differentiate the process between primary (plug over the injury site) or secondary (coagulation cascade) hemostasis. The primary disorders of hemostasis are characterized by mucosal hemorrhages, petequiae and bruises due to thrombocytopenias, thrombocytopathies or von Willebrand disease. In the other hand, coagulopathies may show hemorrhagic signs such as hematomas and internal bleeding. Moreover, hemostatic disorders may be caused by vascular disease and kidney or liver failure. Thrombosis and thromboembolism are due to coagulation inhibition failure or a fibrinolysis defect. The disseminated intravascular coagulation is a complex disease wich involves disorders in the whole coagulation process. The availability of coagulation screening tests is very important to diagnose hemorrhagic disorders. Another valuable tool is the transfusion medicine, that in some cases provides a support therapy, and in other cases, is the main treatment for the hemostatic disease.

**Key-words:** hemostasis, coagulation, hemorrhage, coagulopathy, thrombocytopenia.

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Fatores de coagulação .....   | 18 |
| Tabela 2 – Resultados esperados nos parâmetros de hemostasia em hemofilia A e doença de von Willebrand ..... | 35 |
| Tabela 3 – Deficiências hereditária de fatores de coagulação.....  | 48 |
| Tabela 4 – Distúrbios associados à CID, em ordem relativa de frequência, em cães e gatos..                   | 64 |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Cascata da coagulação sanguínea .....  | 20 |
| Figura 2 – Ação dos inibidores fisiológicos da coagulação .....   | 22 |
| Figura 3 – A: paciente canino sendo preparado para a realização do TSMB. B: Filtros utilizados para absorver o sangue que flui da incisão no exame do TSMB..... | 25 |
| Figura 4 – A: canino portador de Doença de von Willebrand com epistaxe. B: TSMB em canino portador da DVW .....   | 33 |
| Figura 5 – A: epistaxe em canino portador de hemofilia A. B: mesmo paciente apresentando hematomas abdominais após traumatismo leve.....                        | 50 |
| Figura 6 – Canino portador de hemofilia clássica apresentando realção de angioedeme após a quinta transfusão. ....  | 52 |



## LISTA DE QUADROS

|  |    |
|--|----|
| Quadro 1 – Sinais clínicos associados com os distúrbios hemostáticos .....       | 13 |
| Quadro 2 – Tipos de doença de von Willebrand em cães .....                       | 36 |
| Quadro 3 – Classificação da hemofilia clássica e suas manifestações comuns ..... | 51 |
| Quadro 4 – Tratamento da CID .....   | 68 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP: adenosina difosfato  
Ag:FvW: antígeno do fator de von Willebrand  
AHIM: anemia hemilítica imunomediada  
AMPc: adenosina monofosfato cíclica  
AT III: antitrombina III  
ATP: adenosina trifosfato  
CID: coagulação intrvascular disseminada  
DDAVP: deamino-8-D-arginina-vasopressina  
DvW: doença de von Willebrand  
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay  
FI: fator I  
FII: fator II  
FIII: fator III  
FIX: fator IX  
FIXa: fator IX ativado  
FV: fator V  
Fva: fator V ativado  
FVII: fator VII  
FVIIa: fator VII ativado  
FVIII: fator VIII  
FVIIIa: fator VIII ativado  
FvW: fator de von Willebrand  
FX: fator X  
FXa: fator X ativado  
FXI: fator XI  
FXII: fator XII  
FXIIa: fator XII ativado  
FXIII: fator XIII  
GPIb: glicoproteína Ib  
GPIIb/IIIa: glicoproteína IIb/IIIa  
IgG: imunoglobulina G  
IVFT: inibidor da via do fator tecidual

PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio I

PC: proteína C

PCR: polymerase chain reaction

PDF: produtos de degradação da fibrina

PIAVK: proteínas induzidas por antagonistas da vitamina K

PS: proteína S

SCH: síndrome de Chediak-Higashi

TCA: tempo de coagulação ativado

TCT: tempo de coagulação da trombina

TIM: trombocitopenia imunomediada

TP: tempo de protrombina

tPA: ativador tecidual do plasminogênio

TSMB: tempo de sangramento da mucosa bucal

TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada

TVVR: tempo de veneno da víbora de Russell

uPA: ativador de plasminogênio tipo uroquinase

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                                      | 13 |
| <b>2. A HEMOSTASIA</b> .....                                    | 14 |
| <b>2.1 Vasos Sanguíneos</b> .....                               | 15 |
| <b>2.2 Hemostasia Primária</b> .....                            | 15 |
| 2.2.1 Cinética Plaquetária.....                                 | 16 |
| 2.2.2 Função Plaquetária .....                                  | 16 |
| <b>2.3 Hemostasia Secundária</b> .....                          | 17 |
| 2.3.1 Fator Tecidual .....                                      | 18 |
| 2.3.2 Fatores de Ativação por Contato.....                      | 18 |
| 2.3.3 Cascata da Coagulação .....                               | 19 |
| <b>2.4 Inibidores da Coagulação</b> .....                       | 21 |
| <b>2.5 Fibrinólise</b> .....                                    | 23 |
| <b>3. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS EM HEMOSTASIA</b> .....             | 24 |
| <b>3.1 Testes para Avaliação da Hemostasia Primária</b> .....   | 24 |
| 3.1.1 Tempo de Sangramento da Mucosa Bucal .....                | 24 |
| 3.1.2 Contagem Plaquetária Estimada .....                       | 25 |
| 3.1.3 Contagem Plaquetária Manual.....                          | 26 |
| 3.1.4 Contagem Plaquetária Automática.....                      | 26 |
| 3.1.5 Testes de Função Plaquetária.....                         | 26 |
| 3.1.6 Antígeno FvW .....  | 27 |
| 3.1.7 Ensaio Funcionais do FvW .....                            | 27 |
| <b>3.2 Testes para Avaliação da Hemostasia Secundária</b> ..... | 27 |
| 3.2.1 Tempo de Coagulação Ativado.....                          | 28 |
| 3.2.2 TP e TTPA.....  | 28 |
| <b>3.3 Testes de Fibrinólise</b> .....                          | 29 |
| 3.3.1 Produtos de Degradação da Fibrina .....                   | 29 |
| 3.3.2 Tempo de Coagulação da Trombina .....                     | 30 |
| 3.3.3 Fibrinogênio .....  | 30 |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.3.4 Antitrombina III .....  | 30        |
| <b>4. DESORDENS PLAQUETÁRIAS CONGÊNITAS.....</b>                                      | <b>32</b> |
| <b>4.1 Doença de Von Willebrand .....</b>   | <b>32</b> |
| <b>4.2 Trombastenia de Glanzmann .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>4.3 Trombopatia do Basset Hound.....</b>   | <b>37</b> |
| <b>4.4 Trombopatia de Cães Spitz.....</b>   | <b>38</b> |
| <b>4.5 Deficiência de Armazenamento Plaquetário em Cocker Spaniel Americano .....</b> | <b>38</b> |
| <b>4.6 Síndrome de Chediak-Higashi .....</b>  | <b>38</b> |
| <b>5. DESORDENS PLAQUETÁRIAS ADQUIRIDAS.....</b>                                      | <b>40</b> |
| <b>5.1 Trombocitopenia .....</b>  | <b>40</b> |
| 5.1.1 Trombocitopenias Infecciosas.....   | 40        |
| 5.1.2 Trombocitopenia Induzida por Fármacos.....                                      | 42        |
| 5.1.3 Trombocitopenia por Sequestro de Plaquetas.....                                 | 42        |
| 5.1.4 Trombocitopenia por Consumo de Plaquetas .....                                  | 43        |
| 5.1.5 Trombocitopenia Decorrente de Neoplasia .....                                   | 43        |
| 5.1.6 Trombocitopenia Imunomediada .....  | 43        |
| <b>5.2 Trombocitoses .....</b>  | <b>46</b> |
| <b>6. COAGULOPATIAS CONGÊNITAS.....</b>   | <b>48</b> |
| <b>6.1 Hemofilia A.....</b>   | <b>49</b> |
| <b>6.2 Hemofilia B.....</b>   | <b>53</b> |
| <b>6.3 Deficiência de Fator I.....</b>  | <b>55</b> |
| <b>6.4 Deficiência de Fator II .....</b>  | <b>55</b> |
| <b>6.5 Deficiência de Fator VII.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>6.6 Deficiência de Fator X.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>6.7 Deficiência de Fator XI .....</b>  | <b>57</b> |
| <b>6.8 Deficiência de Fator XII.....</b>  | <b>57</b> |
| <b>6.9 Deficiência de Fatores Vitamina K Dependentes .....</b>                        | <b>58</b> |
| <b>7. COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS.....</b>   | <b>59</b> |
| <b>7.1 Intoxicação por Anticoagulantes Rodenticidas .....</b>                         | <b>59</b> |
| <b>7.2 Intoxicação por Veneno Botrópico .....</b>                                     | <b>61</b> |
| <b>7.3 Coagulação Intravascular Disseminada .....</b>                                 | <b>64</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>8. OUTRAS DOENÇAS DA HEMOSTASIA .....</b> | <b>70</b> |
| <b>8.1 Doença Hepática.....</b>              | <b>70</b> |
| <b>8.2 Doença Renal.....</b>                 | <b>70</b> |
| <b>8.3 Doença Vascular.....</b>              | <b>71</b> |
| <b>8.4 Trombose.....</b>                     | <b>71</b> |
| <b>9. CONCLUSÃO .....</b>                    | <b>73</b> |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                      | <b>74</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

As desordens de sangramento são comuns em cães, e podem ser congênicas ou adquiridas, e estão associadas a um ou mais defeitos na resposta hemostática. Algumas vezes a natureza clínica do sangramento (**Quadro 1**) pode auxiliar na diferenciação entre defeitos primários (plaquetas ou vasos) e secundários (coagulação). Além disso, as avaliações laboratoriais são muito úteis na detecção e diferenciação das desordens de hemostasia (Johnstone, 2002).

Além de sangramento, os mecanismos hemostáticos anormais podem também causar trombose e tromboembolismo, resultando potencialmente em falência orgânica. As causas mais comuns de sangramento espontâneo em cães são a trombocitopenia, a CID e a intoxicação por rodenticidas. Doenças congênicas da coagulação são raras. Os distúrbios com sangramentos espontâneos são extremamente comuns em cães, mas são raros em gatos. Alterações nos tampões de hemostasia são, contudo, frequentemente observadas em gatos com doença hepática, peritonite infecciosa felina e neoplasia, embora tendências de sangramentos espontâneos sejam extremamente raras nestes pacientes. Trombocitopenia com sangramento espontâneo pode ser ocasionalmente encontrada em gatos com distúrbios da medula óssea induzidos por retrovírus (Nelson e Couto, 2001).

| <b>Defeitos Hemostáticos Primários</b> | <b>Defeitos Hemostáticos Secundários</b> | <b>Sinais Clínicos Inespecíficos</b>  |
|--|--|---|
| Equimose<br>Petéquia<br>Púrpura        | Hemartrose<br>Hematoma<br>Hemoptise      | Epistaxe<br>Hematêmese<br>Hematoquezia<br>Hematúria<br>Melena<br>Hemorragia prolongada<br>Hemorragia espontânea |

Quadro 1 – Sinais clínicos associados com os distúrbios hemostáticos

Fonte: modificado de Ettinger e Feldman, 2004, p. 1917.

## 2. A HEMOSTASIA

O sistema cardiovascular distribui o sangue para os tecidos de todo o corpo e está predisposto, diariamente, a diversos tipos de lesão. Porém, os indivíduos normais têm um mecanismo bem controlado que impede a perda de sangue, mantém o fluxo sanguíneo e permite a cicatrização e reparo dos vasos lesados (Baker, 2007).

A hemostasia pode ser definida como o equilíbrio entre a hemorragia e a trombose, ou seja, deve correr no sistema circulatório de maneira fluida. O sangue não pode extravasar, o que caracterizaria uma hemorragia, e não pode coagular, o que caracterizaria uma trombose. Caso ocorra uma das duas situações, o organismo deve ter mecanismos que inibam o extravasamento ou a formação de trombos. Além disto, as células que fazem o revestimento interno dos vasos sanguíneos não devem apresentar lesões ou estarem ativadas. O próprio vaso sanguíneo deve mostrar-se íntegro e com elasticidade. Quando todo este conjunto funciona de modo harmônico, ativando-se e desativando-se quando necessário, a hemostasia está mantida. Quando qualquer um destes componentes está alterado, a balança da hemostasia, que representa o equilíbrio, pende para a trombose ou para a hemorragia (Silva e Hashimoto, 2006). Os fatores que concorrem para este equilíbrio são os fatores plasmáticos da coagulação sanguínea, os inibidores fisiológicos da coagulação, os vasos sanguíneos, o sistema fibrinolítico, mecanismos antifibrinolíticos, a célula endotelial e as plaquetas (Silva e Hashimoto, 2006).

A hemostasia também pode ser dividida, de modo didático, em duas partes: hemostasia primária e hemostasia secundária. A hemostasia primária é composta pela interação entre as plaquetas e o endotélio vascular lesionado para formar um tampão plaquetário no local. Nos capilares e vênulas, o tampão plaquetário inicial associado à vasoconstrição local pode promover adequada hemostasia. Em vasos onde o fluxo sanguíneo e a pressão são maiores, é essencial estabilizar este tampão com uma mecha de fibrina insolúvel, formada pelo processo da hemostasia secundária (Day et al., 2001).

A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata cujo produto final é a fibrina, formada a partir do fibrinogênio, que estabiliza o tampão plaquetário (Lopes et al., 2007). As células endoteliais, fatores de coagulação, sistema fibrinolítico e os mecanismos antifibrinolíticos participam da hemostasia secundária. As plaquetas também participam da hemostasia secundária. O termo coagulação sanguínea, muitas vezes usado de modo abrangente, como se representasse a hemostasia, na verdade refere-se aos fatores plasmáticos da coagulação (Silva e Hashimoto, 2006).



## 2.1 Vasos Sanguíneos

Os vasos sanguíneos são formados pela túnica íntima, pela membrana basal e pelas túnicas média e adventícia. A túnica íntima é formada pelas células endoteliais, que revestem a luz dos vasos pela membrana basal e pela matriz extracelular. Acima da túnica íntima está a túnica média, representada pelas células musculares. A túnica adventícia, formada por tecido conectivo, especificamente fibroblastos, recobre a túnica média. A célula endotelial desempenha um papel extremamente importante na hemostasia porque ativa as hemostasias primária e secundária e o sistema fibrinolítico, bem como participa da resposta inflamatória. As células endoteliais também têm a capacidade de inibir e limitar a formação do trombo ao local da lesão (Silva e Hashimoto, 2006).

O endotélio é inerte, mas quando o sangue é exposto ao colágeno subendotelial, os mecanismos hemostáticos são ativados com conseqüente adesão e agregação plaquetária, liberação de mediadores e em seguida a ativação do fator XII (hemostasia secundária). Além disso, as células endoteliais são ricas em tromboplastina que também ativa o sistema de coagulação (Lopes et al., 2007).

As propriedades antitrombóticas dos vasos sanguíneos são expressas com a finalidade de prevenir ou reverter a agregação plaquetária, de inibir a ativação dos fatores de coagulação, inibir a formação de fibrina e com isto manter a fluidez do sangue. Em situação fisiológica, o vaso sanguíneo está expressando as propriedades antitrombóticas. Quando ocorrem alterações de fluxo sanguíneo, lesão vascular, aumento da turbulência e na vigência de um processo inflamatório, as células endoteliais passam a expressar um fenótipo pro-trombótico e antifibrinolítico (Silva e Hashimoto, 2006).

## 2.2 Hemostasia Primária

Na hemostasia primária tem-se vasoconstrição local, adesão e agregação plaquetária com conseqüente formação de um tampão plaquetário inicial. Por agregação entende-se a fixação de uma plaqueta em outra e por adesão entende-se a fixação de uma plaqueta no vaso sanguíneo. Para que ocorram a adesão e a agregação é necessário que esteja presente o fator de von Willebrand, uma glicoproteína que facilita estas ações (Lopes et al., 2007).

### 2.2.1 Cinética Plaquetária

As plaquetas são formadas na medula óssea a partir da célula pluripotencial (*stem cell*) que vai dar origem à linha megacariocítica. A primeira célula da linha dos megacariócitos é o megacarioblasto que vai formar o pró-megacariócito e megacariócito. A divisão celular cessa, mas a divisão nuclear continua. Pode-se encontrar células de 4 a 64 núcleos. Este processo é chamado endomitose. As plaquetas são pequenos fragmentos do citoplasma do megacariócito liberados na corrente sanguínea. O citoplasma do megacariócito é formado por longos pseudópodes que penetram nos sinusóides das células endoteliais, liberando as plaquetas que são observadas como pequenos discos com grânulos vermelhos com 2 a 5µm de diâmetro (em gatos o tamanho é variável) na circulação sanguínea (Lopes et al., 2007). As plaquetas não são consideradas células porque não possuem núcleo e são incapazes de realizar a divisão celular (Silva e Hashimoto, 2006).

A trombopoiese é induzida pela trombopoietina, que estimula todos os estágios de megacariocitopoiese e maturação. À medida que os megacariócitos aumentam em número e em tamanho, o mesmo ocorre com as plaquetas. A produção de plaquetas também é estimulada, em menor grau, pela interleucina-6, pela interleucina-11 e pela eritropoietina. A síntese de trombopoietina ocorre no fígado, na medula óssea e em numerosos outros locais e parece ser regulada de forma descendente pela massa de plaquetas (Ettinger e Feldman, 2004). As plaquetas aparecem na circulação entre 3 e 5 dias após o estímulo da produção. Possuem uma vida média em torno de 8 dias, sendo que um terço delas é sequestrado pelo baço (Lopes et al., 2007).

O valor normal de plaquetas para cães e gatos está entre 200.000 a 500.000 plaquetas/µL (Baker, 2007). Valores menores que 100.000/µL indicam claramente uma trombocitopenia, sendo que até 50.000/µL é suficiente para prevenir uma hemorragia e com 30.000/µL ou menos espera-se observar inclusive hemorragia espontânea (Lopes et al., 2007).

### 2.2.2 Função Plaquetária

A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com as células endoteliais mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e secreção plaquetária são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, dependendo das condições de estímulos e circunstâncias (Lopes et al., 2007).

Toda vez que um vaso sanguíneo é lesado, ocorre a adesão de plaquetas ao local injuriado. A lesão vascular pode ocorrer por alteração do fluxo sanguíneo, aumento da turbulência, traumatismo e processo inflamatório. A lesão expõe ao sangue periférico a matriz subendotelial e as plaquetas se aderem ao colágeno (Silva e Hashimoto, 2006). A adesão ao colágeno é feita através do FvW. As plaquetas se aderem ao colágeno subendotelial e liberam aminas vasoativas (serotonina, catecolaminas, adrenalina e outras) que promovem a vasoconstrição local com com liberação de ADP (Lopes et al., 2007).

A liberação de ADP na presença de cálcio induz à agregação plaquetária, que é mediada pela emissão de pseudópodes, fibrinogênio e FvW (Johnstone, 2002; Silva e Hashimoto, 2006; Lopes et al., 2007). Estas plaquetas agregadas liberam adenosina trifosfato que é degradado a ADP e facilita a maior agregação das plaquetas no local da parede do vaso lesionado, sendo o suficiente para deter a hemorragia (Lopes et al., 2007). A agregação plaquetária estabiliza os agregados plaquetários, determina a emissão de pseudópodos, a secreção plaquetária e a retração do coágulo (Silva e Hashimoto, 2006).

As plaquetas também são importantes na coagulação por fornecerem fosfolípídeo plaquetário e por carrear vários fatores de coagulação em sua superfície. Após a formação da primeira camada, inicia-se um depósito dos fatores de coagulação, culminando com a transformação do fibrinogênio em fibrina, que se deposita sobre as plaquetas, formando um trombo que constitui a fase terminal da coagulação sanguínea (Lopes et al., 2007).

### **2.3 Hemostasia Secundária**

A hemostasia secundária consiste na coagulação sanguínea. O objetivo da coagulação é a geração de trombina, que converte o fibrinogênio solúvel em fibrina insolúvel. Então as moléculas de fibrina formam ligações cruzadas, resultando em uma malha que estabiliza o tampão plaquetário formado na hemostasia primária. A formação de trombina é o produto de uma cascata de reações enzimáticas iniciada pelo trauma tissular e liberação do fator tecidual (Day et al., 2001).

Tradicionalmente, a cascata de coagulação é dividida em sistemas extrínseco, intrínseco e comum, com o sistema intrínseco iniciado pelos ativadores de contato e o sistema extrínseco pela interação do fator tecidual com o fator VII ativado. Estes dois caminhos convergem no sistema comum no momento em que o fator FX é ativado. É conhecido que o sistema extrínseco é o principal caminho para o início da cascata de coagulação do sangue “in vivo”, e que a ativação do sistema intrínseco é mais importante para sustentar o processo (Day

et al., 2001). A relação dos fatores envolvidos na cascata de coagulação está presente na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Fatores de coagulação

| <b>Fator</b>                     | <b>Nome</b>                             | <b>Meia-vida plasmática</b> |
|----------------------------------|---|-----------------------------|
| I                                | Fibrinogênio                            | 1,5-6,3 dias                |
| II                               | Protrombina                             | 2,1-4,4 dias                |
| III                              | Tromboplastina tecidual                 |                             |
| IV                               | Cálcio                                  |                             |
| V                                | Proacelerina                            | 15-24 horas                 |
| VII                              | Proconvertina                           | 1-6 horas                   |
| VIII                             | Fator anti-hemofílico                   | 2,9 dias                    |
| IX                               | Fator de Christmas                      | 24 horas                    |
| X                                | Fator Stuart                            | 32-48 horas                 |
| XI                               | Antecedente da tromboplastina do plasma | 30 horas                    |
| XII                              | Fator de Hageman                        | 18-52 horas                 |
| XIII                             | Estabilizador de fibrina                | 4,7-7 dias                  |
| Precalicroína                    | Fator de Fletcher                       | 35 horas                    |
| Cinogênio de alto peso molecular | Fator de Fitzgerald                     | 6,5 dias                    |

Fonte: modificado de BAKER, 2007, p. 171.

### 2.3.1 Fator Tecidual

O fator tecidual (ou fator III) é uma glicoproteína presente na membrana plasmática de várias células, incluindo os fibroblastos endoteliais. Normalmente o fator tecidual não está presente na circulação ou na superfície celular, mas quando as células subendoteliais são lesionadas ou ativadas, este fator passa a ser expresso e exposto aos fatores de coagulação circulante (Day et al., 2001).

### 2.3.2 Fatores de Ativação por Contato

Tradicionalmente os fatores de ativação por contato (fator XII, precalicreína e cininogênio de alto peso molecular) eram conhecidos por iniciar o ramo intrínseco da coagulação, mas apesar dos fatores de contato serem importantes nos testes de coagulação “in vitro”, a significância desses fatores na coagulação “in vivo” é duvidosa, pois as deficiências destes fatores não estão associadas com distúrbios hemorrágicos (Day et al., 2001).

Estas três proteínas plasmáticas podem se ligar a superfícies carregadas negativamente (como a membrana basal subendotelial exposta durante a injúria) ou complexos moleculares, onde interagem para iniciar uma série de respostas. O objetivo dos ativadores de contato é converter o fator XII na sua forma ativada. O FXIIa é capaz de iniciar a via intrínseca da coagulação pela conversão do fator XI em fator XI ativado. O FXIIa também converte a precalicreína em calicreína, que então converte o cininogênio de alto peso molecular em bradicinina, um mediador da inflamação. “In vivo”, os fatores de ativação por contato são mais importantes para o início da inflamação e da fibrinólise do que para a coagulação (Day et al., 2001).

### 2.3.3 Cascata da Coagulação

O primeiro evento que desencadeia a cascata de coagulação é a presença do fator tecidual no local injuriado, que ativa o FVII. O FVII ativa o FX, que interage com FV e gera um complexo protrombinase capaz de agir sobre a protrombina e gerar trombina (fator II ativado ou FIIa). A quantidade gerada de trombina é muito pequena e incapaz de formar um coágulo, mas é capaz de ativar os fatores V, VIII, IX e XI (Silva e Hashimoto, 2006).

O FVII também ativa o FIX, e desencadeia a ativação da via intrínseca. O FXII, pertencente à fase de contato da via intrínseca, também ativa o FXI, que por sua vez vai ativar o FX. A trombina gerada ativa o FXI, que sustenta a ativação do FIX (Silva e Hashimoto, 2006).

O FVIII, ativado pela presença de trombina, liga-se à membrana plaquetária juntamente com o FIX ativado, formando um complexo (tenase) que ativa o FX. O FXI ativado pela trombina permite que seja gerada uma quantidade maior de FX ativado. O FXa complexa-se com o FV (ativado pela trombina) e age sobre a protrombina transformando-a em trombina. A partir deste ponto a quantidade de trombina formada é grande o suficiente para gerar um trombo eficiente (Silva e Hashimoto, 2006). Isto ocorre através da clivagem do fibrinogênio em monômeros de fibrina, que se agregam espontaneamente para formar os filamentos de fibrina. A trombina também ativa o FXIII no local da formação do coágulo, que

por sua vez catalisa a formação de ligações estáveis entre os monômeros de fibrina, estabilizando o coágulo (Day et al., 2001).

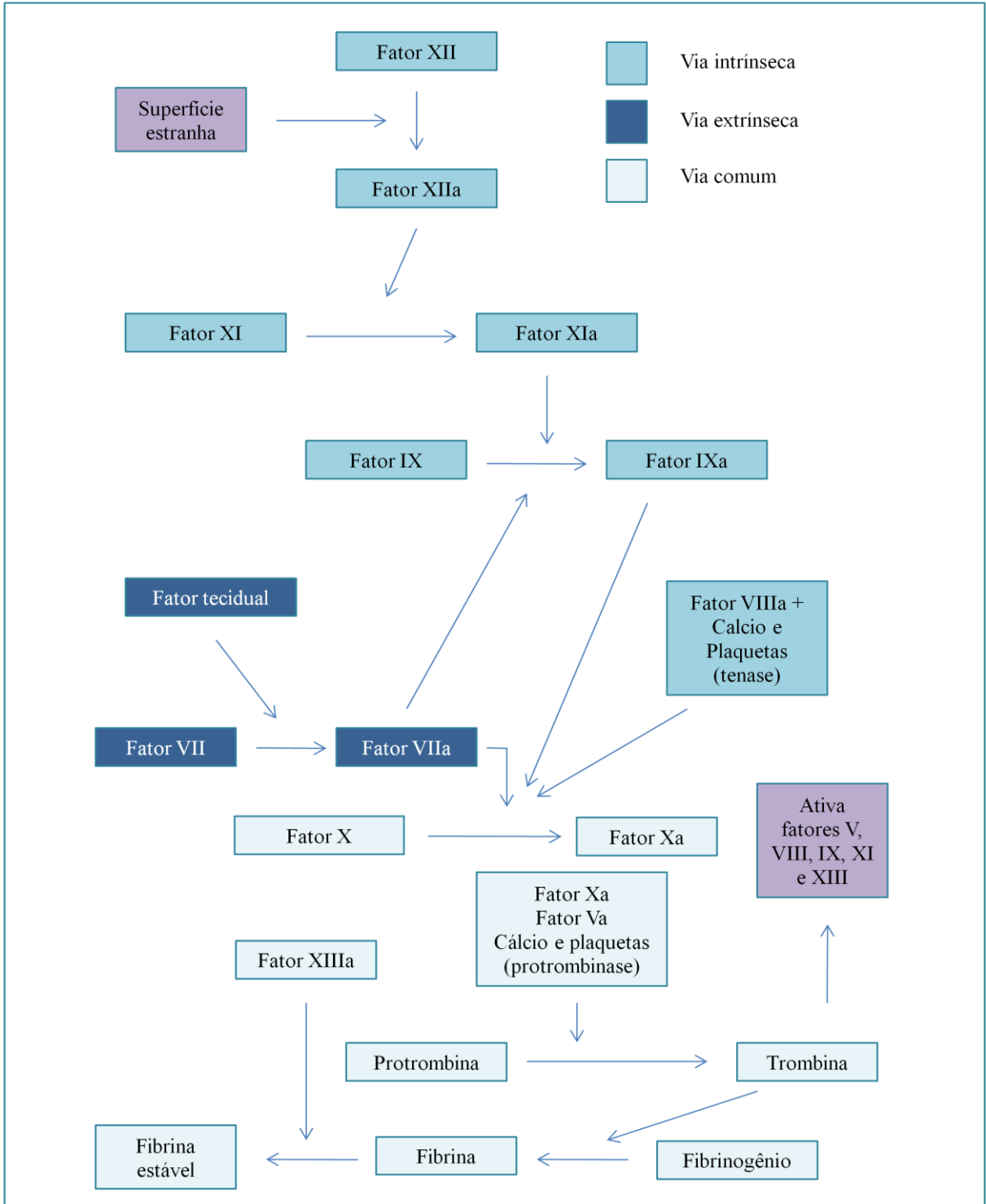


Figura 1 - Cascata da coagulação sanguínea

Fonte: modificado de SILVA E HASHIMOTO, 2006, p. 32.

É interessante notar que uma via não suporta a deficiência da outra, ou seja, se o defeito estiver na via extrínseca e a via intrínseca estiver normal o paciente terá uma doença hemorrágica. O mesmo vale para a via intrínseca, um paciente hemofílico tem vias extrínseca e comum normal, mas tem hemorragia. A via extrínseca por si só não sustenta a formação do coágulo de fibrina, ela necessita da via intrínseca, porque o FIX ativado é fundamental na manutenção dos níveis de FVIIa. A via extrínseca ativa fatores IX e X e a pequena formação de trombina ativa os fatores V, VIII, IX e XI. A partir deste ponto, a cascata de coagulação torna-se autocatalítica. Somente será desativada por mediadores como o sistema fibrinolítico, inibidores fisiológicos da coagulação e pela ação anticoagulante das células endoteliais (Silva e Hashimoto, 2006). A cascata da coagulação sanguínea está esquematizada na **Figura 1**.

## 2.4 Inibidores da Coagulação

A coagulação sanguínea é finalizada por dois tipos de reação. A inibição é a linha base de controle da ativação inapropriada da cascata de coagulação. O segundo grupo de reações inclui as reações terminais iniciadas pelo processo de coagulação. Além do controle bioquímico da coagulação, os fatores de coagulação ativados são rapidamente diluídos quando o sangue flui do local de injúria, auxiliando na limitação das reações ao local da lesão (Day et al., 2001).

A antitrombina III é o mais importante inibidor da coagulação. Esta glicoproteína é um potente inibidor da trombina e dos fatores IXa, Xa e XIa, mas é um fraco inibidor do FVIIa. A atividade anticoagulante da ATIII circulante é marcadamente aumentada pelas ligações aos polímeros de sulfato de heparina localizados nas superfícies das células. Na hemostasia normal, a ATIII ligada ao sulfato de heparina das células endoteliais participa do controle do processo de coagulação periféricamente ao local de injúria vascular (Day et al., 2001).

O inibidor da via do fator tecidual está ligado à superfície das células endoteliais e também é liberado em pequenas quantidades pelas plaquetas ativadas. Ele inibe tanto o complexo do FVIIa com o fator tecidual, quanto o FXa, por formar um complexo de cálcio ionizado estável entre o fator tecidual, FVIIa e FXa (Day et al., 2001).

As proteínas C e S são proteínas plasmáticas anticoagulantes dependentes de vitamina K, que circulam no plasma como precursores inativos. As células endoteliais possuem receptores de membrana, denominados trombomodulinas, que ligam-se à trombina. Quando a trombina gerada na cascata da coagulação liga-se à trombomodulina nas células endoteliais

intactas, a trombina ligada perde sua atividade procoagulante. Então, torna-se uma potente ativadora da PC (Day et al., 2001).

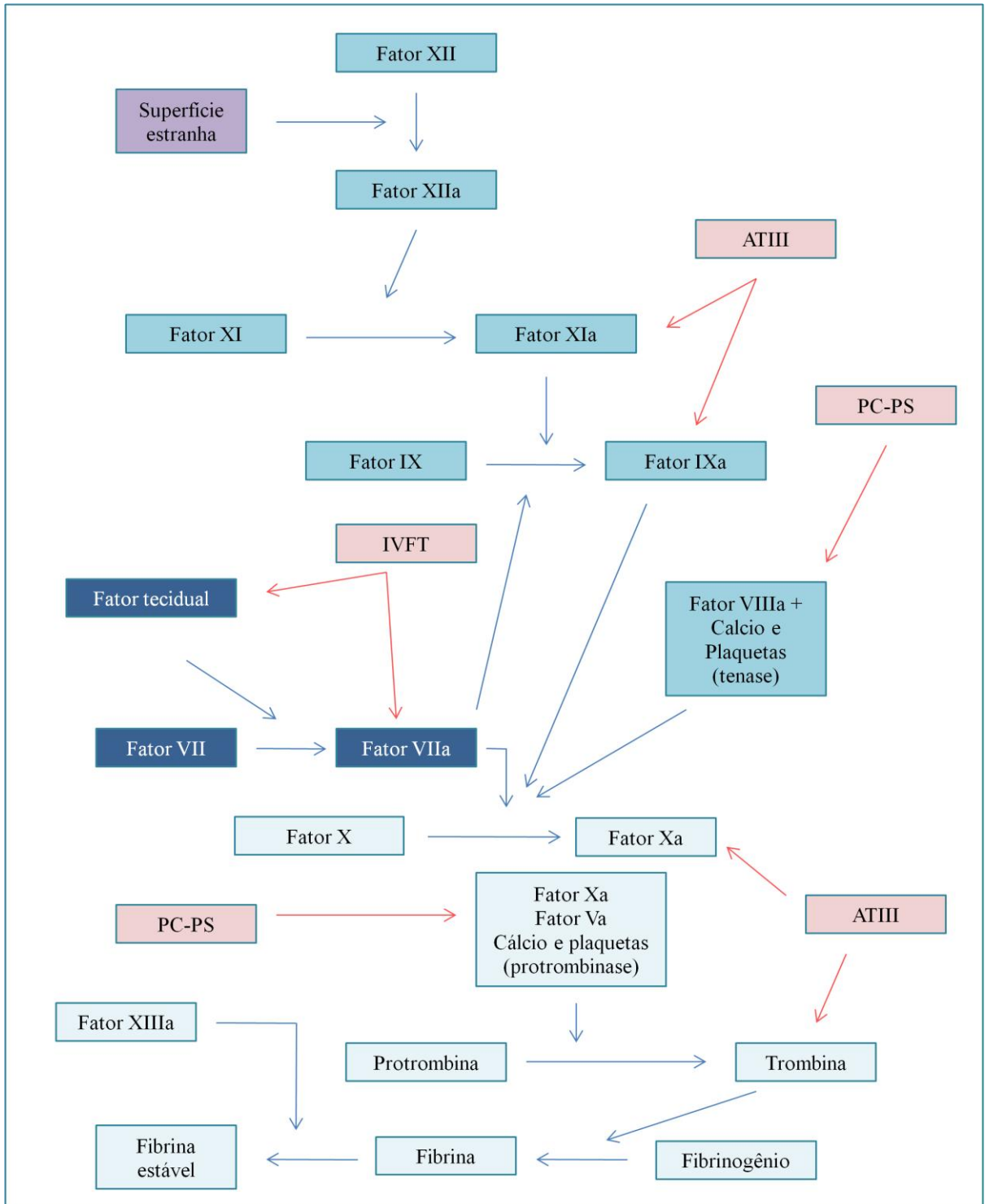


Figura 2 - Ação dos inibidores fisiológicos da coagulação

Fonte: modificado de SILVA E HASHIMOTO, 2006, p. 53.



O complexo de proteína C ativada, PS (cofator), cálcio ionizado e uma membrana de fosfolipídeos carregada negativamente é um potente inativador dos fatores Va e VIIIa, consequentemente inibindo os complexos tenase e protrombinase. A ativação da proteína C pela trombina-trombomodulina é proporcional à quantidade de trombina presente e da extensão da resposta de coagulação. O complexo proteína C e S ativado também inicia a fibrinólise (Day et al., 2001). A ação dos inibidores fisiológicos da coagulação está esquematizada na **Figura 2**.

## 2.5 Fibrinólise

O estágio final da hemostasia consiste na reparação do dano vascular e lise do coágulo de fibrina para reestabelecer a patência valcular e o fluxo sanguíneo normal. A fibrinólise é mediada por uma enzima proteolítica, a plasmina. Esta é sintetizada pelo fígado e circula como um precursor inativo, o plasminogênio. Quando o plasminogênio é ativado à plasmina, degrada as ligações cruzadas da fibrina no coágulo para liberar os produtos de degradação da fibrina (Day et al., 2001).

Os ativadores de plasminogênio mais potentes são o ativador tecidual do plasminogênio e o ativador de plasminogênio tipo uroquinase. As células endoteliais vasculares sintetizam e secretam tPA em resposta a uma grande variedade de estímulos, incluindo a bradicinina dos ativadores de contato e as catecolaminas. O tPA secretado inicialmente liga-se à fibrina, localizando o tPA ao local da formação do trombo. Neste momento o tPA pode ligar-se ao plasminogênio e ativá-lo à plasmina. O uPA é secretado primeiramente pelos rins como um precursor inativo, e é ativado pelo contato com a caliceína, cininogênio de alto peso molecular e FXII, assim como pela plasmina e age parece agir na urina e em tecidos. O FXIIa também ativa o plasminogênio, tanto diretamente quanto via FXI e precaliceína. A caliceína então ativa o cininogênio de alto peso molecular, que também converte plasminogênio em plasmina (Day et al., 2001).

A fibrinólise é controlada pelos inibidores específicos plasmáticos que inativam os ativadores da plasmina e do plasminogênio. A plasmina é inibida pela antiplasmina  $\alpha_2$  e pela macroglobulina  $\alpha_2$ . O inibidor do ativador do plasminogênio I (PAI-1), secretado por células endoteliais, hepatócitos e plaquetas, é o inibidor mais importante do tPA e do uPA. Quase todo o tPA circulante está ligado ao PAI-1, e só o tPA capturado pela fibrina é capaz de ativar o plasminogênio (Day et al., 2001).

### 3. TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS EM HEMOSTASIA

Apesar da importância de um histórico detalhado e de um exame clínico acurado, os testes laboratoriais são necessários para estabelecer a presença da maioria das desordens da hemostasia. Estes testes são utilizados para avaliar a atividade geral do mecanismo da hemostasia, mas para identificar problemas de fatores de coagulação como a deficiência do FVIII (hemofilia A) são necessários exames laboratoriais específicos. A avaliação laboratorial é indispensável na investigação de desordens hemostáticas, mas suas limitações devem ser conhecidas (Day et al., 2001).

Testes simples de rotina podem não ser sensíveis o bastante para identificar desordens hemorrágicas leves e a deficiência de alguns fatores (precalicreína, FXII) pode produzir resultados anormais apesar de o animal ser clinicamente sadio. No entanto, os testes de hemostasia devem ser realizados com amostras apropriadamente coletadas e processadas, o que fornecerá informações muito mais úteis quando interpretadas juntamente com o histórico e os resultados da avaliação clínica do paciente (Day et al., 2001).

#### 3.1 Testes para Avaliação da Hemostasia Primária

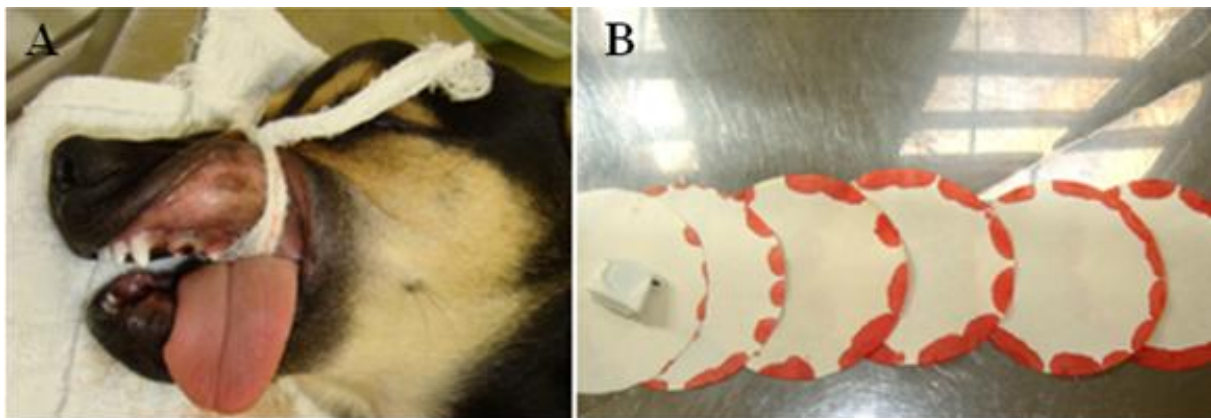
Na hemostasia primária, interações entre o endotélio vascular e as plaquetas resultam na formação do tampão hemostático primário, que fornece uma selagem temporária para o local de injúria do vaso sanguíneo. As plaquetas aderem-se ao colágeno subendotelial no local da injúria vascular via FvW. Este processo ativa as plaquetas, e leva a liberação dos conteúdos dos grânulos plaquetários, agregação plaquetária e formação da superfície plaquetária procoagulante para a ativação dos fatores de coagulação. Defeitos vasculares, doença de von Willebrand, e defeitos plaquetários quantitativos e qualitativos apresentam uma defeituosa hemostasia primária (Day et al., 2001).

##### 3.1.1 Tempo de Sangramento da Mucosa Bucal

Demonstra o tempo requerido para o sangramento de uma incisão superficial padronizada cessar. Em animais, o TSMB é o método mais eficaz para a mensuração do tempo de sangramento. OTSMB é realizado com o paciente em decúbito lateral, usando-se a mínima contenção e leve sedação. O lábio superior é revertido e fixado nesta posição com uma gaze (**Figura 3**), que deve estar apertada o suficiente para impedir o retorno venoso do

lábio e causar congestão (Day et al., 2001). É realizado um corte de 0,5 cm na mucosa do lábio revertido, e um papel filtro é usado para absorver o sangue, com o cuidado de não aproxima-lo da incisão para não prejudicar o coágulo em formação (Day et al., 2001; Lopes et al., 2007). Então marca-se o tempo decorrido entre a incisão e o fim do sangramento (Day et al., 2001).

O intervalo de sangramento varia de 1,7 a 4,2 minutos para cães e 1 a 2,4 minutos para gatos (Day et al., 2001; Lopes et al., 2007). Existem outras técnicas para verificar o tempo de sangramento, como o corte da parte viva de uma unha (no cão o sangramento deve cessar em 5 minutos, e no gato em 3 minutos), do plano nasal e da gengiva (Lopes et al., 2007). Um TSMB prolongado é observado na DvW, na trombocitopenia (quando a contagem estiver abaixo de 75.000 plaquetas/ $\mu$ L) e nos defeitos plaquetários qualitativos (Day et al., 2001; Lopes et al., 2007).



**Figura 3** – A: paciente canino sendo preparado para a realização do TSMB. B: Filtros utilizados para absorver o sangue que flui da incisão no exame do TSMB

Fonte: imagens cedidas gentilmente por Viviane Pedralli.

### 3.1.2 Contagem Plaquetária Estimada

O número de plaquetas pode ser estimado no exame de uma lâmina de distensão sanguínea (Day et al., 2001). Para isso, em uma lâmina de distensão sanguínea preparada com sangue colhido com EDTA e submetida à coloração do tipo Romanowsky são contadas as plaquetas, em no mínimo 10 campos, em objetiva de 100x. A média é multiplicada por 15.000, e então tem-se o valor de plaquetas estimada em  $\mu$ L (Lopes et al., 2007).

Uma contagem normal equivale a valores maiores que 165.000 plaquetas/ $\mu$ L. Valores de 80.00 a 150.000 plaquetas/ $\mu$ L indicam trombocitopenia leve e valores de 50.000 a 90.000

plaquetas/ $\mu\text{L}$  indicam uma trombocitopenia moderada, no entanto, ainda promovem uma hemostasia adequada. Uma contagem inferior a 50.000 plaquetas/ $\mu\text{L}$  revela uma trombocitopenia severa, sendo que valores inferiores a 10.000 plaquetas/ $\mu\text{L}$  são considerados perigosamente baixos (Day et al., 2001).

### 3.1.3 Contagem Plaquetária Manual

Estas contagens são simples se serem realizadas mas apresentam um coeficiente de variação de 20 a 25%, mesmo quando realizadas por profissionais experientes. Uma quantidade de amostra de sangue colhida com EDTA (ou citrato de sódio) é misturada com um diluente a base de oxalato de amônio, para diluir o sangue e lisar as hemácias. Após completa hemólise é transferido para um hemocitômetro e submetido a repouso em cuba úmida. Então são contadas as plaquetas é realizada. Todas as contagens plaquetárias devem ser confirmadas com um exame da lâmina de sangue corada. Cães saudáveis apresentam contagens de 200.000 a 700.000 plaquetas/ $\mu\text{L}$ , e gatos saudáveis de 300.000 a 800.000 plaquetas/ $\mu\text{L}$  (Day et al., 2001).

### 3.1.4 Contagem Plaquetária Automática

As contagens plaquetária automáticas são mais precisas do que as contagens manuais, pois milhares de plaquetas são avaliadas em cada amostra. As plaquetas de gatos tendem a se agregar, o que pode causar alguma deficiência na contagem, pois são excluídas da avaliação. Macroplaquetas também podem ser excluídas das contagens. Isto é mais comum em gatos do que em cães (Day et al., 2001).

### 3.1.5 Testes de Função Plaquetária

Testes de função plaquetária são indicados quando há evidência clínica de defeito na hemostasia primária ou TSMB prolongado, mas trombocitopenia e DvW já tenham sido descartadas. É essencial obter um histórico detalhado de todos os medicamentos que o paciente recebeu nos últimos 10 dias, especialmente se foram administrados aspirina ou algum antiinflamatório não esteroideal, os quais inibem a função plaquetária. A habilidade das plaquetas se agregarem e liberarem o conteúdo dos seus grânulos é testada em agregômetros

plaquetários após a adição de reagentes que induzam estas respostas em plaquetas saudáveis (Day et al., 2001).

### 3.1.6 Antígeno FvW

A concentração do Ag:FvW no plasma pode ser determinada por eletroimunoensaio ou ELISA. O sangue deve ser colhido em citrato de sódio e o plasma separado, se possível, imediatamente e refrigerado. È aconselhável discutir com o laboratório os métodos de colheita, armazenamento e envio indicados. As concentrações de FvW em cães estão aumentadas após exercício intenso, azotemia, doença hepática, idade avançada, parto e após o uso de DDAVP. O sangue deve ser colhido de animais em repouso. Quando houver um episódio de doença sistêmica ou estresse devem ser aguardadas no mínimo 2 semanas para a colheita. Fêmeas prenhes ou em estro não devem ser colhidas (Day et al., 2001).

### 3.1.7 Ensaio Funcionais do FvW

Estes ensaios verificam a habilidade funcional do FvW plasmático de aglutinar as plaquetas, pela formação de pontes entre as plaquetas adjacentes. Plaquetas suspensa em um plasma são expostas a um agente aglutinante, como a botrocetina, alterando a carga de superfície plaquetária, o que permite a ligação do FvW. O resultado pode ser visualizado a olho nu, mas apresenta melhor acurácia quando o procedimento é feito em agregômetro (Day et al., 2001).

## 3.2 Testes para Avaliação da Hemostasia Secundária

Na hemostasia secundária o tampão hemostático primário é estabilizado pela formação da fibrina e suas ligações. A conversão do fibrinogênio solúvel em fibrina insolúvel pela trombina é o passo final da cascata de reações enzimáticas em que os fatores de coagulação são convertidos em suas formas ativas. O sistema extrínseco pode servir como um iniciador da resposta de coagulação, enquanto o sistema intrínseco é responsável por sustentat a formação de fibrina (Day et al., 2001). A avaliação da hemostasia secundária baseia-se na detecção destes fatores de coagulação em quantidades normais, tanto por dosagens diretas dos fatores quanto por verificação da fase final da coagulação, a formação de fibrina (Lopes et al., 2007).

### 3.2.1 Tempo de Coagulação Ativado

O TCA é um teste simples que mede o tempo necessário para que o sangue total fresco coagule na presença de uma substância que inicie a coagulação por ativação por contato. Este teste avalia as vias intrínseca e comum da coagulação. É preciso evitar a contaminação da amostra no momento da coleta com fator tecidual, pois este ativa a via extrínseca (Day et al., 2001). O uso combinado de TCA com a contagem plaquetária estimada é um método simples e útil de diagnosticar CID (Bateman, 1999).

Para a realização do teste o sangue deve ser colhido em um tubo TCA específico (contendo proteínas de contato) e o tempo deve ser avaliado imediatamente. A amostra é suavemente homogeneizada e colocado em banho maria a 37°C (por 60 segundos para cães e 45 segundos para gatos). A amostra é observada a cada 10 segundos até que seja percebida a formação do primeiro coágulo, que deve ocorrer antes da coagulação de toda amostra (Day et al., 2001). Contaminação com tromboplastina tecidual, trombocitopenia severa, anticoagulantes, alguns antibióticos, salicilatos e barbitúricos podem prolongar o TCA (Lopes et al., 2007). Os valores de TCA para cães são de 60 a 110 segundos, e de 50 a 75 segundos para gatos (Day et al., 2001).

### 3.2.2 TP e TTPA

Estes testes avaliam o tempo necessário para uma amostra de plasma com citrato de sódio coagule a partir da adição de cálcio ou agentes ativadores. O sangue deve ser colhido em tubos de citrato de sódio, e então são homogeneizados suavemente por inversão. É essencial que o tubo seja preenchido na quantidade exata, para garantir a correta proporção de sangue e anticoagulante. O plasma deve ser separado da amostra e então congelado, se os testes não forem realizados imediatamente. É extremamente aconselhável discutir indicações de colheita e envio da amostra com o laboratório antes da colheita do sangue (Day et al., 2001).

O TP identifica anormalidades das vias extrínseca e comum da coagulação (Day et al., 2001; Lopes et al., 2007). A coagulação é iniciada pela adição de cálcio e tromboplastina tecidual (sintética ou derivada de cérebro de coelho, preferencialmente) e o tempo é cronometrado até a coagulação da amostra. O TP é sensível para detectar defeitos na via extrínseca (FVII) e/ou defeitos na via comum (fibrinogênio, FII, FV e FX). Algum dos fatores

de coagulação precisa estar abaixo de 30% do normal para haver prolongamento do TP. O TP está prolongado na intoxicação por dicumarínicos, doença hepática, deficiências específicas de fator, e CID. A deficiência do FVII causa prolongamento do TP sem alterar outros testes de coagulação. O FVII possui uma meia-vida relativamente curta, e o TP pode ser o único teste de coagulação prolongado nos estágios iniciais da deficiência de vitamina K adquirida sangue (Day et al., 2001).

O TTPA identifica anormalidades de coagulação das vias intrínseca e comum da coagulação. Este teste mensura o tempo necessário para o plasma formar um coágulo de fibrina após a mistura com cefalina, caolim e cálcio. A cefalina é um substituto do fator plaquetário e o caolim ativa o FXII. Este teste mede a deficiência de fatores abaixo de 30% (Lopes et al., 2007). O TTPA não é capaz de detectar portadores de hemofilia com mais de 40% de atividade dos fatores VIII e IX. Pode ocorrer sangramento clínico sem alteração de TTPA ou TP em casos de intoxicação leve por rodenticidas. Apesar da atividade do FVIII em animais com DvW estar reduzida em alguns casos, raramente está em um valor que altere o TTPA (Day et al., 2001). Para a interpretação destes exames, é aconselhável verificar com o laboratório os valores de referência utilizados (Baker, 2007).

### **3.3 Testes de Fibrinólise**

O produto final da coagulação é a formação da fibrina. O próximo passo é o processo de reparação do vaso sanguíneo lesado, lise do coágulo e restauração do fluxo sanguíneo. Isto é garantido pela dissolução do coágulo pelo sistema fibrinolítico. O fibrinogênio e a fibrina são degradados pela plasmina e inativados por várias outras moléculas. A fibrinólise e a fibrinogénólise produzem PDF, os quais possuem efeitos anticoagulantes enquanto a plasmina inibe FVa e FVIIIa. Com exceção da CID, não é comum ocorrer fibrinogénólise in vivo (Day et al., 2001).

#### **3.3.1 Produtos de Degradação da Fibrina**

O aumento dos PDF indica excessiva fibrinólise. O método utiliza aglutinação em látex por kits comerciais e é principalmente utilizado para diagnóstico de CID, mas também pode estar aumentado após cirurgias. Os valores normais são  $<40\mu\text{g/mL}$  para cães e  $<8\mu\text{g/mL}$  para gatos (Lopes et al., 2007). Outras condições associadas com aumento de PDF

incluem coagulopatia associada a envenenamento com antagonista da vitamina K, doença hepática e condições trombóticas (Day et al., 2001).

### 3.3.2 Tempo de Coagulação da Trombina

O TCT é um teste útil para verificar o tempo necessário para uma amostra de plasma com citrato coagular após adição de trombina exógena e cálcio. Este teste só avalia a habilidade da trombina exógena converter o fibrinogênio plasmático em fibrina, pois pula todas as outras etapas da cascata de coagulação. O TCT está prolongado na hipofibrinogeneimias e na disfibrinogeneimias, ou se houverem inibidores da trombina na amostra, como por exemplo heparina, PDF ou proteínas séricas anormais. Em animais saudáveis, o TCT é de 8 a 10 segundos (Day et al., 2001).

### 3.3.3 Fibrinogênio

O fibrinogênio (fator I da cascata de coagulação) é uma proteína de fase aguda produzida no fígado. Nos processos inflamatórios de várias causas a concentração de fibrinogênio pode elevar-se, e geralmente este aumento inicia com a resposta dos leucócitos, persistindo por mais tempo (Baker, 2007). O método de dosagem de fibrinogênio consiste na precipitação por calor, subsequente centrifugação e leitura por refratometria (Lopes et al., 2007). Este método é pouco sensível para a determinação exata da concentração de fibrinogênio, mas testes de dosagem de fibrinogênio por tempos de coagulação não são comumente utilizados em laboratórios veterinários (Day et al., 2001).

As concentrações de fibrinogênio variam de 0,5 a 3 g/L em cães e gatos normais. A hipofibrinogeneimias ocorre principalmente pelo excessivo consumo na CID, mas pode ser encontrada na deficiência de FI e em doença hepática avançada (Day et al., 2001).

### 3.3.4 Antitrombina III

A ATIII é um anticoagulante natural circulante, o principal inibidor da trombina. A concentração de ATIII diminui em distúrbios hipercoaguláveis como a CID. Os testes comuns para avaliação da ATIII são baseados em ensaios enzimáticos colorimétricos. A ATIII também está reduzida na doença hepática devido a menor síntese. Esta enzima apresenta um



tamanho similar ao da albumina, e é eliminada em nefropatias e enteropatias com perda de proteína (Day et al., 2001).

## 4. DESORDENS PLAQUETÁRIAS CONGÊNITAS

### 4.1 Doença de Von Willebrand

A doença de von Willebrand é a doença congênita hemorrágica mais comum em cães, com mais de 50 raças afetadas, e raças mistas. É particularmente comum no Dobermann, no Terrier escocês e no Old English Sheepdog, e transmitida como uma herança autossômica. A doença também é encontrada em gatos (Johnstone, 2002; Ettinger e Feldman, 2004). A desordem resulta de uma deficiência do FvW, uma glicoproteína complexa envolvida na adesão das plaquetas ao vaso sanguíneo lesionado, evento inicial da hemostasia primária (Johnstone, 2002).

O FvW é uma proteína heterogênea composta de múltiplos de subunidades idênticas, que variam de 500 a 10000 kD (Johnstone, 2002). O fator é sintetizado e produzido por megacariócitos e células endoteliais (principalmente). As células endoteliais podem liberar o fator na circulação ou na matriz subendotelial, onde ele se liga ao colágeno. Em contraste, o FvW plaquetário e megacariocítico estão armazenados nos grânulos alfa das plaquetas (Ettinger e Feldman, 2004). Nos corpúsculos endoteliais de Weibel Palade há um armazenamento de FvW que pode ser liberado por substâncias fisiológicas como trombina, vasopressina e adrenalina (Johnstone, 2002). O FvW dos grânulos plaquetários pode ser liberado pelo estímulo de agentes agregantes de plaquetas, como colágeno, ADP, adrenalina e trombina. O FvW é necessário como um carreador da molécula do FVIII, dando suporte à sua função pelo prolongamento do seu tempo de meia-vida na circulação (Ettinger e Feldman, 2004; Lopes et al., 2007).

Quando ocorre alguma injúria vascular (principalmente em áreas de intenso fluxo sanguíneo), o FvW plasmático liga-se aos elementos subendoteliais expostos, como o colágeno, aumentando a ação do FvW subendotelial e facilitando a adesão plaquetária. É importante ressaltar que os múltiplos de FvW maiores são mais efetivos na promoção da adesão plaquetária. A ligação das moléculas de FvW leva a mudanças conformacionais que aumentam a afinidade de ligação por receptores de glicoproteína Ib (GPIb) da membrana das plaquetas circulantes. Este evento ativa as plaquetas, expondo o receptor para a glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) ligadora de fibrinogênio que facilita a interação plaqueta-plaqueta. A agregação plaquetária é reforçada pela ligação do FvW aos receptores da GPIIb/IIIa de membrana das plaquetas ativadas (Johnstone, 2002).

A doença de von Willebrand resulta da deficiência quantitativa e/ou qualitativa do FvW, e é denominada um defeito extrínseco à plaqueta que envolve falha na resposta plaquetária devido à deficiência de um fator plasmático necessário para a função normal. Não é um defeito primário da própria plaqueta (Johnstone, 2002).

A doença apresenta-se com sinais clínicos e severidade muito variados, o que reflete a heterogeneidade do defeito do FvW. Alguns pacientes apresentam doença com histórico de severos episódios hemorrágicos espontâneos. Em outros, a tendência ao sangramento pode ser tão leve que só torna-se clinicamente aparente após injúria tecidual significativa (trauma ou cirurgia). Os sangramentos são principalmente superficiais e de mucosas (Johnstone, 2002).

Alguns sinais comuns incluem hematúria, gengivorragia, melena, epistaxe (**Figura 4**), sangramento excessivo no estro, excesso de sufusões em locais de feridas traumáticas ou cirúrgicas e na troca de dentes decíduos (Johnstone, 2002; Ettinger e Feldman, 2004). Hemorragias petequiais ou de superfícies mucosas são mais comumente encontradas em outros tipos de desordens plaquetárias. São raramente encontrados na doença de von Willebrand (Johnstone, 2002). Esta pode ser uma informação útil para a diferenciação das desordens hemorrágicas. Outros sinais atribuídos à DvW incluem claudicação, hemorragia intracraniana e má cicatrização de feridas. A doença pode ser diagnosticada em qualquer idade, mas tipicamente é detectada em cães jovens (Day et al., 2001).

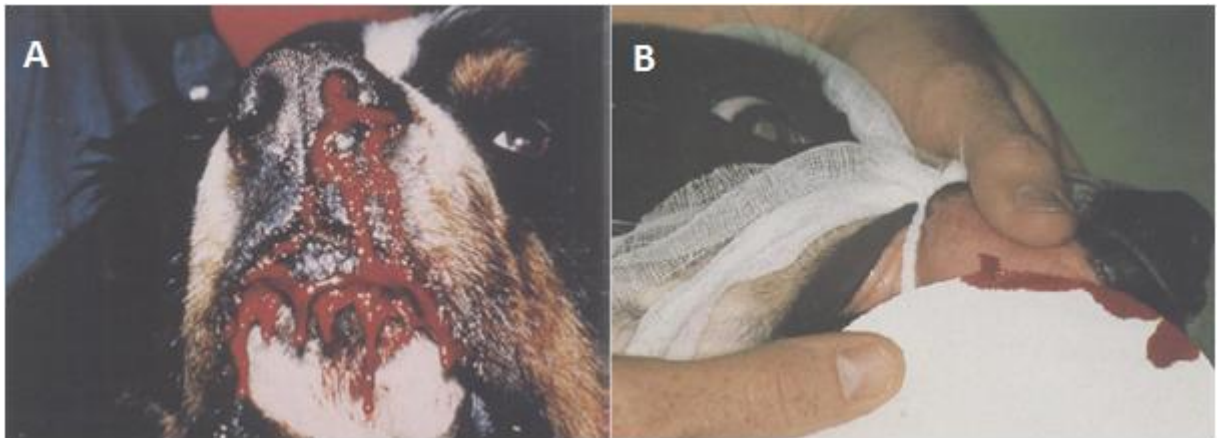


Figura 4 – A: canino portador de Doença de von Willebrand com epistaxe. B: TSMB em canino portador da DVW

Fonte: Johnstone, 2002, p. 5.

A expressão clínica da DvW é variável e depende de vários fatores que reduzem a concentração e/ou a função do FvW (**Quadro 2**). Genericamente, quanto menor a

concentração do FvW, maior a tendência à hemorragia. Uma deficiência absoluta de FvW (DvW tipo III) resulta em hemorragia severa e geralmente necessita de reposição de FvW. Redução menos dramática da concentração de FvW ocorre na DvW tipo I, e conseqüentemente a expressão clínica é mais leve (Day et al., 2001).

Apesar de não existirem comprovações de que o hipotireoidismo produza uma forma adquirida de DvW, esta desordem hormonal parece influenciar a frequência e a severidade da hemorragia em cães com DvW, pois animais previamente assintomáticos podem vir a sangrar se desenvolverem hipotireoidismo concorrente. A suplementação de hormônios tireoidianos não deve ser usada para o tratamento ou profilaxia da DvW, exceto em cães comprovados hipotireoideos por testes de função da tireóide (Day et al., 2001).

O perfil laboratorial dos testes de hemostasia de um paciente portador da DvW é extremamente variável. A contagem plaquetária apresenta-se tipicamente normal, enquanto o TSMB está prolongado. Na maioria dos animais afetados, os tempos de coagulação estão normais. O TCA e o TTPA podem, no entanto, apresentarem-se levemente prolongados em alguns pacientes se houver concomitante redução da concentração plasmática do FVIII, o que pode confundir a doença com uma hemofilia (Johnstone, 2002). A **Tabela 2** apresenta os resultados laboratoriais para cães com DvW e hemofilia A.

A confirmação laboratorial da DvW depende da identificação da deficiência quantitativa e/ou qualitativa do FvW. Em outras palavras, pode não haver somente uma inadequada concentração da proteína, mas a distribuição dos multímeros da proteína presentes pode estar anormal (Johnstone, 2002).

Homozigotos e a maioria dos heterozigotos portadores da DvW tipo I têm concentrações de antígeno do FvW menores que 50% (intervalo normal de 50 a 170%), com uma distribuição normal dos multímeros. Alguns heterozigotos, no entanto, possuem concentrações de Ag:FvW próximo ao valor mínimo do intervalo de referência (50 a 75%), tornando difícil a identificação destes carreadores com base no uso exclusivo do imunoensaio para a detecção da concentração de Ag:FvW. O tipo I da doença frequentemente tem uma manifestação leve da desordem, com tendência a requisitar mais a manutenção do paciente do que produzir risco de morte, particularmente em cães submetidos à cirurgia ou que sofreram traumatismos. A DvW tipo II é usualmente mais severa. O Ag:FvW pode estar quantitativamente normal ou subnormal, e os testes para a função do FvW são necessários para confirmar a deficiência funcional associada a esta condição (Johnstone, 2002).

Os homozigotos que expressam o tipo II da DvW invariavelmente apresentam uma diátese hemorrágica clinicamente severa, e os episódios de sangramentos podem ser de risco

de morte. Os homozigotos possuem quantidades pequenas ou indetectáveis de Ag:FvW plasmático (ou seja, concentrações plasmáticas menores que 1%). Os heterozigotos apresentam concentrações plasmáticas de Ag:FvW subnormais ou próximas ao menor valor do intervalo de referência, e são frequentemente assintomáticos (Johnstone, 2002)

O tratamento da DvW é paliativo, e visa prevenir ou controlar a hemorragia. O objetivo é aumentar a concentração plasmática de Ag:FvW até um nível que previna ou pare a hemorragia. Isto é atingido com o uso de derivados do plasma que contenham FvW, apesar de que o DDAVP, um medicamento que aumenta as concentrações plasmáticas de Ag:FvW, também possa ser usado (Day et al., 2001).

Tabela 2 – Resultados esperados nos parâmetros de hemostasia em hemofilia A e doença de von Willebrand

| <b>Teste</b>         | <b>Hemofilia A</b> | <b>Doença de von Willebrand</b> |
|----------------------|--------------------|---------------------------------|
| TTPA                 | Prolongado         | Normal a prolongado             |
| TP                   | Normal             | Normal                          |
| TCA                  | Prolongado         | Normal a prolongado             |
| TSMB                 | Normal             | Prolongado                      |
| Fibrinogênio         | Normal             | Normal                          |
| PDF                  | < 10µg/mL          | < 10µg/mL                       |
| Contagem plaquetária | Normal             | Normal                          |
| Concentração do FvW  | Normal             | Diminuída                       |
| Atividade do FVIII   | Diminuída          | Normal ou diminuída             |

Fonte: Baker, 2007, p. 180.

O crioprecipitado é o tratamento de escolha para a DvW. O crioprecipitado oferece a maior quantidade de FvW no menor volume de plasma, está associado a poucos efeitos colaterais e é o tratamento mais eficaz no acréscimo da concentração plasmática de Ag:FvW e redução do TSMB, comparado a qualquer outra forma de terapia. O quadro X apresenta orientações para a terapia de infusão. Plasma fresco congelado é segunda melhor opção para o tratamento da DvW. Para prevenir a sensibilização do receptor aos antígenos do doador e minimizar os riscos de reação transfusional, o sangue total fresco deve ser evitado, especialmente em pacientes com repetidas hemorragias e que requerem repetidos tratamentos. Sangue total fresco tipado ou submetido a teste de compatibilidade sanguínea pode ser usado

para tratar a DvW, mas sempre que possível deve ser reservado àqueles casos em que ocorra concomitante anemia severa (Day et al., 2001).

O DDAVP é um análogo sintético da vasopressina que aumenta as concentrações plasmáticas do Ag:FvW e do FVIII pela indução da liberação do FvW dos corpos de Weibel-Palade das células endoteliais. Este medicamento só funciona em pacientes que possuam depósitos endoteliais de FvW (isto é, DvW tipo I) e é ineficiente em pacientes com o tipo III da doença, os quais não possuem depósitos de FvW. Injeções repetidas produzem uma diminuída resposta devido à depleção dos depósitos da proteína, o que torna o uso deste medicamento limitado para os episódios hemorrágicos (Day et al., 2001).

| <b>Tipo</b>     | <b>Características</b>   |
|-----------------|--|
| <b>Tipo I</b>   | Redução quantitativa do FvW<br>Todos multímeros presentes, mas em reduzida quantidade<br>Severidade da apresentação clínica depende da raça<br>Alguns pacientes respondem à administração de DDAVP |
| <b>Tipo II</b>  | Variação na redução quantitativa do FvW<br>Multímeros anormais: proporção dos multímeros grandes reduzida<br>Apresentação clínica severa<br>Não há resposta à administração de DDAVP               |
| <b>Tipo III</b> | Deficiência absoluta de FvW no plasma e nas células endoteliais<br>Total ou quase total ausência dos multímeros<br>Apresentação clínica muito severa<br>Não há resposta à administração de DDAVP   |

Quadro 2 - Tipos de doença de von Willebrand em cães

Fonte: modificado de Day, 2001, p. 231.

O DDAVP é recomendado como profilaxia pré-cirúrgica em Dobermanns “de risco” e Dobermanns com status de DvW desconhecido mas com prolongado TSMB. Também pode ser usado para aumentar a concentração plasmática de Ag:FvW em cães doadores antes da colheita de sangue. A vasopressina sintética está disponível em comprimidos ou solução injetável. Preparações intranasais também estão disponíveis em solução ou spray. As soluções intranasais de DDAVP são administradas subcutaneamente 30 minutos antes da cirurgia, em uma dose de 1 µg/kg diluída em 1 mL de solução salina estéril. Esta dose pode reduzir o

TSMB em Dobermanns por aproximadamente 4 horas. No entanto, a resposta à droga é imprevisível em cães com a DvW e o DDAVP não deve ser usado para controlar hemorragias cirúrgicas. Plasma ou crioprecipitado devem estar disponíveis para o controle das hemorragias cirúrgicas excessivas (Day et al., 2001).

#### **4.2 Trombastenia de Glanzmann**

A trombastenia de Glanzmann foi diagnosticada em Otterhounds e no Cão dos Pirineus. O defeito parece ser um traço autossômico recessivo, e os cães afetados apresentam hemorragias de mucosa excessivas. Os testes hemostáticos mostram uma contagem plaquetária normal a levemente diminuída, volume plaquetário normal a aumentado e TSMB aumentado (Day et al., 2001).

As características incluem retenção plaquetária diminuída, ausência de agregação das plaquetas ao colágeno, reduzida secreção dos grânulos e, ADP, fator ativador de plaquetas e trombina ausentes. A mudança de forma ocorre. A retração do coágulo é anormal, o que ajuda a diferenciar essa doença da trombopatia do Basset Hound. Estudos de citometria de fluxo mostram redução de GPIIb/IIIa na superfície das plaquetas. Esse defeito também interrompe a ligação ao cálcio e resulta em uma proteína truncada, que desestabiliza o complexo GPIIb/IIIa (Day et al., 2001).

#### **4.3 Trombopatia do Basset Hound**

A trombopatia do Basset Hound é uma herança autossômica recessiva caracterizada por um defeito na agregação plaquetária atribuída a um distúrbio no metabolismo da adenosina monofosfato cíclica (AMPc) nas plaquetas do sangue (Johnstone, 2002). Ocorre reduzida retenção plaquetária e ausência de agregação frente aos agentes agonistas, exceto a trombina. Assim, o início da agregação plaquetária é tardia. A doença é restrita a esta raça, e não existe em humanos (Day et al., 2001).

A liberação de serotonina C plaquetária está diminuída em resposta ao colágeno, mas a liberação de ADP e trombina está normal. A mudança de forma das plaquetas ocorre e a retração do coágulo é normal. A etiologia precisa é desconhecida. As plaquetas afetadas apresentam um aumento basal das concentrações de AMPc, atribuído à atividade

fosfodiesterase comprometida. O aumento do AMPc inibe a liberação do cálcio intracelular, a ligação dos receptores e a hidrólise de fosfolípidos (Day et al., 2001).

Os testes de coagulação e a contagem plaquetária estão normais. No entanto, o TSMB está marcadamente elevado nas expressões homozigotas desta disfunção plaquetária. Testes específicos de função plaquetária, como a agregometria plaquetária, são geralmente necessários para confirmar o diagnóstico. Homozigotos apresentam tendências hemorrágicas severas, enquanto heterozigotos costumam ser assintomáticos (Johnstone, 2002).

#### **4.4 Trombopatia de Cães Spitz**

Esta trombopatia foi descrita em cães Spitz jovens com hemorragia crônica e intermitente de mucosas. A desordem é muito semelhante à trombopatia do Basset Hound, exceto pelo fato da secreção plaquetária em resposta ao ADP estar ausente (Boudreaux et al., 1994).

#### **4.5 Deficiência de Armazenamento Plaquetário em Cocker Spaniel Americano**

A deficiência de armazenamento está associada com um defeito bioquímico que dificulta a secreção quando a plaqueta está ativada. Isto compromete a liberação dos agonistas plaquetários endógenos necessários para promover agregação, e resulta em um atraso significativo na estabilização do plugue hemostático primário (Johnstone, 2002).

Os cães com esta deficiência apresentam hemorragia severa a moderada após trauma, venopuntura ou cirurgia. Apresentam contagem plaquetária normal, TSMB prolongado, redução da agregação plaquetária e da liberação de serotonina C em resposta ao colágeno, e uma relação ATP:ADP da plaqueta aumentada. A desordem pode ser atribuída a um defeito seletivo no transporte de ADP nos grânulos densos. A hemorragia é normalmente severa o suficiente para que seja necessária a transfusão de concentrado plaquetário fresco (Day et al., 2001).

#### **4.6 Síndrome de Chediak-Higashi**

A Síndrome de Chediak-Higashi (SCH) é uma doença autossômica recessiva relatada em gatos, bem como bovinos, ratos, martas, raposas e outros animais. A agregação plaquetária induzida por colágeno, ADP e adrenalina encontra-se marcadamente prejudicada.



Alguns animais são deficientes no conteúdo plaquetário de grânulos densos. O defeito pode incluir albinismo ocular parcial e suscetibilidade aumentada a infecções bacterianas devido à disfunção neutrofílica (Ettinger e Feldman, 2004).

Os gatos com SCH têm deficiência do armazenamento de plaquetas e TSMB prolongado pela anormalidade plaquetária. A transfusão de plaquetas pode corrigir eficientemente esta anormalidade. O tempo médio de inativação das plaquetas do doador na SCH em gatos é de aproximadamente 3,5 dias. O tratamento atual para a deficiência do armazenamento de plaquetas inclui DDAVP, crioprecipitados, transplante de medula óssea e transfusão de plaquetas (Ettinger e Feldman, 2004).

## 5. DESORDENS PLAQUETÁRIAS ADQUIRIDAS

### 5.1 Trombocitopenia

A trombocitopenia é a desordem de hemostasia adquirida mais comum em cães. A trombocitopenia é muito menos comum em gatos. As principais causas de trombocitopenia são: produção reduzida de plaquetas, destruição ou utilização acelerada de plaquetas e sequestro de plaquetas (Day et al., 2001).

#### 5.1.1 Trombocitopenias Infeciosas

A erliquiose canina, uma doença aguda, subaguda ou crônica, é causada pela *Ehrlichia canis*, que afeta o número e a função de plaquetas. Em geral, outras linhagens celulares são acometidas concomitantemente. Os sinais clínicos iniciais são inespecíficos e podem incluir febre, depressão, secreção oculonasal, anorexia e linfadenopatia reacional generalizada. A hemorragia, incluindo epistaxe e petéquias ou púrpuras nas mucosas, pode estar presente durante a fase aguda, mas torna-se mais evidente na fase crônica mais grave. Linfocitose, monocitose, anemia arregenerativa e hiperplasia megacariocítica medular com trombocitopenia periférica são observadas nas fases aguda e crônica moderadas. A fase crônica grave é caracterizada pela pancitopenia decorrente da hipoplasia medular. Na fase aguda, um número aparentemente apropriado de megacariócitos pode ser observado nos preparados de medula óssea (Ettinger e Feldman, 2004).

O mecanismo da trombocitopenia depende do estágio da doença: as plaquetas são consumidas ou sequestradas durante a fase aguda da doença, e a produção de plaquetas está diminuída na fase crônica. Na fase aguda podem ser observados tempo de sangramento prolongado e alteração da agregação plaquetária. A hiperglobulinemia policlonal constitui característica frequente após a fase aguda da doença. Entretanto, a hiperviscosidade sérica também foi descrita na erliquiose canina crônica devido à gamopatia monoclonal (Ettinger e Feldman, 2004).

O diagnóstico se baseia na observação direta das mórulas de *E. canis*, na imunofluorescência indireta específica para a espécie, no ELISA ou na PCR. O tratamento inclui o uso de tetraciclina (10 mg/kg de doxiciclina, por via oral, uma vez ao dia) por no mínimo 3 semanas. Outras terapias de suporte incluem o uso fluidoterapia e transfusão (Ettinger e Feldman, 2004).

O *Anaplasma platys* é o agente etiológico que causa a trombocitopenia cíclica infecciosa dos cães. A doença é caracterizada por episódios parasitêmicos de uma a duas semanas, durante os quais são observadas mórulas nas plaquetas caninas, alternados com episódios trombocitopênicos causados pela destruição periférica das plaquetas parasitadas. A contagem plaquetária pode estar gravemente diminuída e a hemorragia é quase sempre evidente. As infecções duplas com *E. canis* e *A. platys* são comuns, e o comprometimento imunológico do cão, devido às infecções concomitantes como a babesiose e a leishmaniose, podem afetar a gravidade e a apresentação da infecção. Deve-se observar que a infecção por *A. platys* pode ser subclínica (Ettinger e Feldman, 2004).

A *E. equi* e a *E. ewingii* são os agentes causadores da erliquiose granulocítica canina. Nos cães, a infecção pode induzir trombocitopenia e poliartrite, entre outros sinais clínicos. As mórulas podem ser observadas nos neutrófilos. A *E. risticii* é o agente causador da erliquiose equina, mas também pode infectar cães e gatos. A erliquiose nos gatos, que se caracteriza por anemia, leucopenia, trombocitopenia e disproteinemia, também pode ser induzida por *E. canis* (Ettinger e Feldman, 2004).

O *Mycoplasma haemocanis*, agente causador da micoplasmose canina, pode ocasionalmente causar trombocitopenia no paciente, além da anemia. A citauxzoonose felina é causada por *Cytauxzoon felis*, que pode induzir trombocitopenia grave (Ettinger e Feldman, 2004).

As doenças virais potencialmente causadoras de trombocitopenia incluem a infecção por adenovírus canino tipo I, herpesvírus, paramixovírus, parvovírus canino, vírus da leucemia felina, vírus da imunodeficiência felina, vírus da peritonite infecciosa felina e vírus da panleucopenia felina. A viremia também pode induzir trombocitopenia em pequenos animais. A destruição periférica imunomediada das plaquetas também é um importante mecanismo para explicar a trombocitopenia observada na cinomose. O paramixovírus canino infecta as plaquetas, causando degeneração das plaquetas e fagocitose pelas células de Kupffer hepáticas. A trombopoiese medular pode estar diminuída (Ettinger e Feldman, 2004).

As infecções bacterianas, como a salmonelose e a leptospirose, e diversas causas de endotoxemia e sepse podem induzir trombocitopenia, em geral como resultado de CID. As trombocitopenias também podem ser induzidas por doenças fúngicas disseminadas, como a histoplasmose e a candidíase. A leishmaniose e a dirofilariose induzem vasculite e subsequente trombocitopenia e trombocitopatia. A toxoplasmose pode induzir trombocitopenia no gato (Ettinger e Feldman, 2004).

### 5.1.2 Trombocitopenia Induzida por Fármacos

O prejuízo na produção, no consumo ou na destruição de plaquetas pode ser induzido por fármacos. O diagnóstico de trombocitopenia induzida por fármacos pode basear-se em anamnese clínica de administração de fármacos, trombocitopenia inexplicada e retorno da contagem de plaquetas próximo ao intervalo de referência após retirada do fármaco em questão (a menos que tenha ocorrido mielossupressão irreversível). A trombocitopenia pode voltar a ocorrer após uma nova exposição ao mesmo fármaco. A imediata interrupção do medicamento suspeito é o primeiro objetivo do tratamento. A terapia com glicocorticóides ou a administração de produtos derivados do sangue pode ser considerada, se for observado um mecanismo imunomediado ou se a hemorragia for contínua e significativa (Ettinger e Feldman, 2004).

Os efeitos colaterais da terapia com estrogênio incluem a pancitopenia aplásica, com trombocitopenia grave, anemia e leucopenia. Os sinais clínicos incluem debilitação, petéquias nas mucosas, equimose, mucosas pálidas e hematoquezia. Se a trombocitopenia persistir por mais de duas semanas, o prognóstico é mau. Embora a anemia e a trombocitopenia geralmente possam ser tratadas, é comum o óbito devido à leucopenia e neutropenia. O tratamento recomendado baseia-se no uso de esteróides anabolizantes não-estrogênicos, lítio e produtos derivados do sangue. Pode-se considerar a terapia com citocinas, especificamente o uso do fator estimulante de colônia granulocítica, na dosagem de 5µg/kg por dia, por via subcutânea (Ettinger e Feldman, 2004).

### 5.1.3 Trombocitopenia por Sequestro de Plaquetas

O baço normalmente contém cerca de 30% das plaquetas circulantes. O sequestro de plaquetas é frequentemente associado com esplenomegalia, mas a hepatomegalia também pode induzir trombocitopenia. A infecção por *Babesia gibsoni* em cães pode ser um exemplo de trombocitopenia associada com esplenomegalia. Entretanto, outros mecanismos também estão envolvidos, incluindo o consumo de plaquetas e a destruição imunomediada das plaquetas (Ettinger e Feldman, 2004).

Outras causas de sequestro plaquetário incluem sepse e hipotermia. Sequestro plaquetário a nível de vasculatura pulmonar pode contribuir para a trombocitopenia em pacientes septicêmicos. Em cães com hipotermia pode ocorrer sequestro plaquetário no parênquima hepático (Day et al., 2001).

#### 5.1.4 Trombocitopenia por Consumo de Plaquetas

A ativação de plaquetas conduz ao consumo das mesmas, já que estas aderem a várias superfícies e a agregação das plaquetas é desencadeada. A ativação das plaquetas é frequentemente induzida por mecanismos inflamatórios ou quando a inibição do mecanismo hemostático é ineficiente. Os exemplos incluem processos em que há perda de proteína, a vasculite, a neoplasia e a CID (Ettinger e Feldman, 2004).

Trombocitopenia leve transitória pode ser encontrada em cães após hemorragias devido a desordens congênitas ou adquiridas, e trombocitopenia profunda é ocasionalmente observada em cães após hemorragia devido à intoxicação por anticoagulantes rodenticidas. O mecanismo da trombocitopenia nestes casos é desconhecido. Deve-se ter atenção à presença de trombocitopenia associada com tempos de coagulação prolongados, pois pode ser um importante indicativo de CID (Day et al., 2001).

#### 5.1.5 Trombocitopenia Decorrente de Neoplasia

Os sarcomas, os carcinomas e os distúrbios linfoproliferativos e mieloproliferativos, entre outras doenças neoplásicas, têm sido associados com trombocitopenia. Os mecanismos patogênicos podem incluir seqüestro de plaquetas nos tumores esplênicos, hepáticos e vasculares grandes; diminuição da produção de plaquetas na mielofitose ou na mielodisplasia medular, nos tumores secretores de estrogênio (neoplasia das células de sertoli, por exemplo) e em consequência de quimioterapia; consumo de plaquetas na CID, na interação tumor-plaquetas e na microangiopatia; perda de plaquetas na hemorragia associada com tumores; e destruição megacariocítica ou plaquetária imunomediada, que parece estar associada com outras neoplasias caninas, como lipossarcoma, neoplasia benigna mista da glândula mamária, mastocitoma, hemangiossarcoma, adenocarcinoma e fibrossarcomas nasais (Ettinger e Feldman, 2004).

#### 5.1.6 Trombocitopenia Imunomediada

A trombocitopenia imunomediada é uma causa comum de sangramento espontâneo em cães, mas é extremamente rara em gatos (Nelson e Couto, 2001). A TIM é o resultado da ligação de

anticorpos à superfície plaquetária, e de uma prematura eliminação destas plaquetas pelo sistema fagocítico mononuclear (Johnstone, 2002).

Na ausência de outras doenças identificáveis, a condição é denominada como TIM primária, e é considerada um processo autoimune. TIM secundária ocorre em associação com outras condições como neoplasia, infecção viral ou bacteriana, ou doenças como lúpus eritematoso sistêmico. Também pode ocorrer em associação à administração de várias drogas (Johnstone, 2002).

Parece haver uma predisposição racial à TIM primária em Cockers Spaniels, Pastores Alemães, Old English Sheepdogs e Poodles. A TIM primária é mais comum em fêmeas que em machos, e tende a manifestar-se em animais de meia idade (Johnstone, 2002). A TIM primária pode apresentar-se sozinha ou em conjunto com anemia hemolítica imunomediada, caracterizando a síndrome de Evans (Day et al., 2001).

A destruição de plaquetas em cães com TIM é mediada por anticorpos (principalmente IgG) ligados à superfície plaquetária. Na TIM primária estes anticorpos, denominados de anticorpos antiplaquetários, são direcionados contra os antígenos de superfície plaquetária normais do paciente. Não se sabe porque o sistema imune humoral agride os antígenos plaquetários dos animais com TIM primária, mas fatores ambientais, predisposição genética e gênero podem estar envolvidos neste processo (Day, et al., 2001). Ocasionalmente, os megacariócitos também são afetados. Na TIM secundária, anticorpos associados às plaquetas podem ligar-se especificamente a antígenos externos adsorvidos à membrana plaquetária (Johnstone, 2002).

A TIM é uma desordem de destruição plaquetária acelerada, que reduz a vida das plaquetas a horas ou minutos. A trombopoiese costuma estar acelerada, mas em alguns casos pode apresentar-se reduzida. Após interação com o receptor Fc, as plaquetas são destruídas pelos macrófagos esplênicos e hepáticos. Além de ser o principal local de destruição plaquetária na TIM primária, o baço também é uma importante fonte de anticorpos antiplaquetários (Day, et al., 2001).

A tendência hemorrágica observada na TIM está relacionada à diminuição do número de plaquetas e à disfunção plaquetária (Ettinger e Feldman, 2004). Os sinais clínicos são aqueles de um defeito hemostático primário e incluem petéquias, equimoses, sangramento de mucosas, hifema, hemorragia de retina, hematemesa, melena e episaxe (Day, et al., 2001, Nelson e Couto, 2001). Febre, esplenomegalia, hepatomegalia e linfadenopatia são incomuns em cães com TIM primária (Day, et al., 2001).

A forma primária da TIM é diagnosticada após exclusão de outras causas de trombocitopenia, como CID, neoplasia, trombocitopenia associada a fármacos, erliquiose canina e trombocitopenia infecciosa (Day, et al., 2001; Johnstone, 2002). Histórico de anorexia, letargia, fraqueza, palidez, equimoses ou epistaxe, especialmente após um evento estressor (cirurgia, estro, pseudociese, parto ou confinamento) é sugestivo de TIM primária (Johnstone, 2002).

Os testes de coagulação estão geralmente normais, mas o TCA pode apresentar-se levemente aumentado em casos severos de trombocitopenia. O TSMB está invariavelmente prolongado. Macroplaquetas podem estar presentes, indicado trombopoese reforçada. No entanto, em alguns cães, a produção plaquetária da medula óssea também está suprimida. Um leucograma de estresse pode ser notado. Aproximadamente 20% dos cães com TIM apresentam concorrente AHIM (Johnstone, 2002).

O diagnóstico de TIM baseia-se na exclusão após o achado de trombocitopenia grave inexplicada (Ettinger e Feldman, 2004). O diagnóstico de TIM pode ser confirmado com base na resposta à terapia com glicocorticóides (a normalização da contagem plaquetária deve ocorrer em 7 a 10 dias). Porém, isto não diferencia a TIM primária da secundária, uma vez que o efeito dos esteróides é de simplesmente reduzir a taxa de sequestro de plaquetas. De fato, não existem meios práticos de diferenciar a TIM primária da secundária (Johnstone, 2002).

A confirmação de anticorpos pode ser feita por ELISA, radioimunoensaio, imunofluorescência indireta, e técnicas de citometria de fluxo. Estes exames possuem muitas interferências e resultados falsos, além de não serem bem documentados na medicina veterinária. O exame de medula óssea pode revelar lesão dos megacariócitos (Ettinger e Feldman, 2004).

Para o tratamento da TIM indica-se terapia imunossupressora com glicocorticóides combinados com azatioprina. Estes fármacos são administrados e reduzidos gradativamente (Ettinger e Feldman, 2004). A contagem plaquetária deve ser monitorada constantemente durante a terapia com glicocorticóides, e a terapia deve ser mantida enquanto a contagem plaquetária estiver acima dos valores mínimos de referência. Em alguns casos, a administração de glicocorticóides pode ser suspensa (Day, et al., 2001).

A transfusão sanguínea não é indicada, exceto se for realizada antes de esplenectomia ou de qualquer outro tratamento cirúrgico em pacientes gravemente trombocitopênicos. A esplenectomia na TIM não é bem-sucedida. As transfusões de plaquetas costumam ser ineficazes, pois as plaquetas transfundidas são rapidamente destruídas. Além disso, muitas

unidades de plaquetas podem ser necessárias para o mesmo animal, e o risco de desenvolver aloanticorpos plaquetários pode ser aumentado pela administração de plaquetas (Ettinger e Feldman, 2004). A restrição de movimentos é muito importante para minimizar o risco de traumatismos em animais com TIM (Johnstone, 2002).

Vários tratamentos adicionais podem ser usados em conjunto com os glicocorticóides, incluindo ciclofosfamida, vincristina, danazol, ciclosporina, imunoglobulina humana e esplenectomia. Estes tratamentos são reservados àqueles animais refratários à terapia com glicocorticóides ou com doença recorrente. No entanto, estes tratamentos são baseados em observações subjetivas e não possuem estudos científicos controlados que comprovem sua eficácia na terapia da TIM. É aconselhável aos clínicos que utilizem a terapia em que possuam maior experiência (Day, et al., 2001).

A maioria dos cães com TIM primária, com ou sem AHIM, costumam manter uma contagem plaquetária maior que 100.000/ $\mu$ L após terapia inicial. Aproximadamente 30% dos pacientes com TIM morrem ou são eutanasiados durante o episódio inicial de trombocitopenia ou na recorrência da doença. Aproximadamente 40% dos pacientes voltam a apresentar os sinais clínicos de TIM primária, o restante dos pacientes apresentam cura ou permanecem com a doença subclínica. O prognóstico dos cães com TIM e AHIM pode ser considerado bem pior do que os cães que apresentam somente TIM (Day, et al., 2001).

## 5.2 Trombocitoses

A trombocitose primária é caracterizada pelos distúrbios mieloproliferativos, como a leucemia megacarioblástica e a trombocitose essencial (Ettinger e Feldman, 2004), que podem elevar a contagem plaquetária acima de 1.000/ $\mu$ L. A leucemia megacarioblástica também pode causar trombocitopenia. A trombocitose essencial é caracterizada por altas contagens plaquetárias, número aumentado de megacariócitos na medula óssea e nenhuma causa identificável de trombocitose reativa. Em gatos, a leucemia pode ser induzida pela infecção pelo vírus da leucemia felina. Trombocitose também pode ocorrer associada à policitemia vera, à doença limfoproliferativa ou mieloproliferativa ou à mielodisplasia (Day, et al., 2001).

A trombocitose secundária ou reativa é um aumento na contagem de plaquetas além do intervalo de referência. A trombocitose secundária pode ser fisiológica, como ocorre na mobilização das plaquetas do baço e do pulmão induzida pelo exercício e pela adrenalina. Mastocitoma, adenocarcinoma, leucemia linfocítica, mielose eritrêmica, osteossarcoma, carcinoma gengival e carcinoma das células escamosas provocam aumento do número de



plaquetas. A trombocitose reativa e transitória pode ocorrer após terapia mielossupressora, CID excessivamente compensada e hemorragia aguda de tumores. A administração de vincristina no cão produz marcada trombocitose. A trombocitose transitória pode ser observada de 36 horas a 10 dias após uma hemorragia aguda. A trombocitose também pode ocorrer após esplenectomia. O aumento da secreção de eritropoietina causa trombocitose reacional. A inflamação, a infecção, o hiperadrenocorticismismo e os glicocorticóides podem provocar variados graus de trombocitose (Ettinger e Feldman, 2004).

A apresentação clínica de animais com trombocitose varia de acordo com a causa da alteração. A trombocitose reativa é geralmente transitória e sem consequências clínicas. Pacientes com trombocitose primária apresentam tanto tendências trombóticas quanto hemorrágicas, mas os sangramentos são mais comuns. Esplenomegalia é um sinal comum em pacientes com trombocitose primária. A trombose pode ocorrer devido ao aumento da contagem plaquetária e à função plaquetária reforçada. Os sinais clínicos irão depender do órgão que sofreu trombose. A hemorragia costuma ocorrer por função plaquetária ineficiente, e os sinais hemorrágicos são de uma disordem hemostática primária, incluindo hemorragias de mucosas, petéquias e equimoses (Day, et al., 2001).

## 6. COAGULOPATIAS CONGÊNITAS

Coagulopatias hereditárias são mais encontradas em animais como consequência de endocruzamentos. Em raças de cães e gatos em que os endocruzamentos são necessários e em raças em que animais em particular são populares e usados extensivamente em cruzamentos os problemas são mais visíveis. Essas situações fixam um padrão de herança nas raças e concentram tantos os genes “ruins” quanto os “bons”, acarretando em resultados deletérios ou benéficos (Dodd, 1983). Na **Tabela 3** estão representadas as coagulopatias encontradas em cães e gatos.

Tabela 3 – Deficiências hereditária de fatores de coagulação

| <b>Fator</b>  | <b>Defeito</b>                        | <b>Padrão hereditário</b> |
|---------------|---------------------------------------|---------------------------|
| I             | Disfibrinogenemia, hipofibrinogenemia | Autossômico               |
| II            | Hipoprotrombinemia                    | Autossômico recessivo     |
| VII           | Deficiência de fator VII              | Autossômico dominante     |
| VIII          | Hemofilia A                           | Ligado ao X, recessivo    |
| IX            | Hemofilia B                           | Ligado ao X, recessivo    |
| X             | Deficiência de fator X, Hemofilia C   | Autossômico dominante     |
| XI            | Deficiência de fator XI               | Autossômico recessivo     |
| XII           | Traço Hageman                         | Autossômico recessivo     |
| Precalicroína | Deficiência de precalicroína          | Autossômico recessivo     |

Fonte: modificado de Baker, 2007, p. 171.

Os pacientes com defeitos hemostáticos normalmente são avaliados em consequência de colapso, intolerância a exercício, dispnéia, distensão abdominal, claudicação ou massas. O colapso e a intolerância a exercício são normalmente causados pela anemia resultante de sangramento intracavitário, a dispnéia e a distensão abdominal resultam de sangramento intracavitário. A claudicação é normalmente causada por hemartrose e as massas ou protuberâncias normalmente representam hematomas. Os gatos e cães com distúrbios hemostáticos secundários não apresentam petéquias ou equimoses, embora o sangramento das mucosas (melena e epistaxe, por exemplo) seja ocasionalmente observado. Em geral, a gravidade do sangramento é diretamente relacionada à gravidade da deficiência do fator ou dos fatores de coagulação (Nelson e Couto, 2001).

Os distúrbios de coagulação hereditários são causados por mutações nos genes que codificam para os fatores específicos de coagulação. Novas mutações espontâneas podem se originar em qualquer animal de raça pura ou mista e são propagadas com mais frequência quando carreadores assintomáticos são acasalados. Os testes de atividade coagulante específica estabelecem o diagnóstico definitivo de uma doença hereditária do fator e fornecem a base para o tratamento e as estratégias para a origem da doença (Ettinger e Feldman, 2004).

As análises moleculares genéticas têm descoberto muitas mutações diferentes responsáveis pelas deficiências dos fatores em famílias humanas e grupos étnicos. Estudos preliminares em animais indicam uma heterogeneidade genética semelhante. As deficiências dos fatores podem ser classificadas com base no padrão de herança, nos resultados dos testes de coagulação e na ocorrência racial (Ettinger e Feldman, 2004).

### 6.1 Hemofilia A

A hemofilia A, ou hemofilia clássica, consiste em uma deficiência na função ou produção do fator VIII (FVIII) da cascata de coagulação, também conhecido como fator anti-hemofílico. É a segunda desordem congênita de hemostasia mais comum em cães, e tem sido descrita em várias raças, tanto puras quanto mistas, e em gatos (Benn et al., 1978; Gentry et al., 1977; Johnstone e Norris, 1984; Johnstone, 2002; Ettinger e Feldman, 2004; Brooks et al., 2005). Esta doença congênita e hereditária é transmitida ligada ao cromossomo sexual X, tem caráter recessivo, sendo carregada pelas fêmeas e normalmente manifestada pelos machos. No entanto, fêmeas hemofílicas podem ser geradas através da cruzada de uma fêmea carreadora assintomática com um macho hemofílico (Dodds, 1983). Muitos dos casos identificados representam novas mutações, pois os machos afetados pela forma severa da condição raramente atingem a idade de reprodução, sendo esta auto-limitante (Day et al., 2001).

O FVIII é uma proteína de coagulação essencial para a hemostasia secundária normal (produção de fibrina). Funciona como um co-fator da via intrínseca da coagulação facilitando a interação do fator IX ativado, fator X, íons de cálcio e fosfolípidos de membrana das plaquetas ativadas, resultando na ativação do fator X. Em cães com deficiência do FVIII, a produção de fibrina está diminuída, então o agregado plaquetário não recebe reforço adequado. A hemostasia pode ocorrer inicialmente pela reação plaquetária normal, no entanto o sangramento se instala após a fácil remoção do tampão de plaquetas (Johnstone, 2002).

Os sinais clínicos comuns incluem hematomas (**Figura 5B**), hemartose, epistaxe (**Figura 5A**), hemoptise, sangramentos pelo trato urogenital ou gastrointestinal e hemorragias

associadas a traumatismos, cateterização de vasos ou cirurgias. (Johnstone, 2002; Lopes et al., 2007). Os sinais podem se apresentar precocemente através de sangramento excessivo pelo cordão umbilical ou hemorragia gengival após troca de dentes decíduos (Gentry et al., 1977). Além disso, hematomas internos ou morte súbita podem ocorrer devido a sangramentos internos espontâneos (Johnstone, 2002).



Figura 5 – A: epistaxe em canino portador de hemofilia A. B: mesmo paciente apresentando hematomas abdominais após traumatismo leve.

Fonte: Figura A gentilmente cedida pela médica veterinária Simone Tostes de Oliveira. Figura B de autoria de Dalmolin, M. L.

O perfil laboratorial de um cão com hemofilia A tipicamente revela Contagem Plaquetária, Tempo de Sangramento da Mucosa Bucal (TSMB), Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Coagulação da Trombina (TCT) dentro dos intervalos de referência. Porém, o Tempo de Coagulação Ativado (TCA) e o Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) estão usualmente prolongados em até duas vezes o tempo normal (Johnstone, 2002).

A hemofilia A é muito confundida com a doença de von Willebrand porque, historicamente, ambas têm sido denominadas anormalidades do FVIII . O FVIII e o vWF circulam no plasma muito associados um ou outro. A doença de von Willebrand, o distúrbio hemostático hereditário mais comum em animais domésticas, corresponde a um defeito estritamente na função das plaquetas, mas extrínseco a elas (Johnstone, 2002; Baker, 2007). A **Tabela 2** mostra os resultados laboratoriais de animais com hemofilia A e doença de von Willebrand.

Existe uma grande variação na atividade coagulante do FVIII em animais saudáveis, alternando de 60-160 U/dL. As cadelas portadoras da hemofilia A podem apresentar valores

normais ou valores de 30-60 U/dL, não apresentando episódios hemorrágicos (Mansell, 2000). Porém, sangramentos anormais podem ser encontrados durante ovariohisterectomia de cadelas portadoras, sendo isto possível em fêmeas que tenham concentrações de FVIII menores que 25-30% do normal, devido à supressão aleatória do cromossomo X. Fêmeas homozigotas podem apresentar a doença com maior severidade do que os machos (Mansell, 2000). Os pacientes afetados pela hemofilia A possuem valores de FVIII menores que 25% do normal (Day et al., 2001).

O diagnóstico definitivo da hemofilia A é baseado na mensuração específica da atividade coagulante do FVIII (Mansell, 2000). A tendência ao sangramento é classificada como severa, moderada ou leve (**Quadro 3**). Pacientes afetados pela hemofilia A severa apresentam episódios recorrentes de hemorragias espontâneas e necessitam de periódicas terapias de reposição de FVIII, que podem ser feitas com sangue fresco, plasma ou crioprecipitado (Day et al., 2001; Johnstone, 2002; Lopes et al., 2007). Em contraste, pacientes com a forma leve da doença demonstram sangramentos anormais somente após traumas ou cirurgias (Day et al., 2001).

| <b>Severidade</b> | <b>Atividade do FVIII</b> | <b>Manifestações</b>   |
|-------------------|---------------------------|--|
| Severa            | <2% do normal             | Hemorragia severa prolongada após trauma, hemartrose e hemorragias musculares espontâneas, hemorragias cavitárias com risco de morte |
| Moderada          | 2-15% do normal           | Hemorragia severa após cirurgia ou trauma grave, algum sangramento após trauma leve, hemartrose e hemorragia espontânea ocasionais   |
| Leve              | 15-25% do normal          | Sangramentos somente após trauma grave ou cirurgia   |

Quadro 3 – Classificação da hemofilia clássica e suas manifestações comuns

Fonte: Day et al., 2001, p. 238.

A terapia básica para animais hemofílicos consiste em simples cuidados de enfermagem que permitam que o próprio mecanismo hemostático do paciente tenha a chance de controlar uma hemorragia. Bandagens, compressão, cauterização local e ligamento de vasos, e restrição à movimentação podem ser suficientes para permitir a cura, mas o tratamento pode ser prolongado (Mansell, 2000). Geralmente não é aconselhável drenar ou perfurar um hematoma, mas as bandagens podem ajudar a evitar seu crescimento. As

medicações devem ser administradas oralmente ou por injeções (subcutâneas ou endovenosas) com agulha de pequeno calibre. Injeções intramusculares são contraindicadas visto que frequentemente levam a hematomas musculares profundos. Medicamentos que prejudiquem a função plaquetária devem ser evitados (Johnstone, 2002).

As cirurgias eletivas não são indicadas. Caso um procedimento cirúrgico seja indispensável, o paciente deve receber suplementação de FVIII exógeno antes, durante e após a cirurgia (Mansell, 2000).

A manutenção dos episódio hemorrágicos pode ser difícil em animais severamente afetados, e os proprietários costumam pedir a eutanásia quando o diagnóstico é confirmado. O ponto principal para o controle dos episódios consiste em aumentar a concentração de FVIII plasmática acima de 25-30% do normal, o que permitiria a hemostasia (Giles et al., 1982;).

Em casos em que a perda de sangue é extensa, a transfusão de sangue total fresco ou plasma fresco (congelado ou não) e concentrado de eritrócitos pode ser necessária. O plasma fresco (congelado ou não) pode ser transfundido (6-10 mL/kg) para fornecer FVIII em um menor volume (Mansell, 2000). Todo o plasma deve ser reaquecido somente antes da transfusão, utilizando um banho-maria entre 30-37°C por 20 a 30 minutos (Lacerda, 2008). Os crioprecipitados contêm concentrações de FVIII aproximadamente 10 vezes maior que o plasma e permite que um menor volume de infusão seja utilizado (Mansell, 2000).



Figura 6 – Canino portador de hemofilia clássica apresentando reação de angioedeme após a quinta transfusão.

Fonte: Dalmolin, M. L.

Reações adversas costumam ocorrer em pacientes que receberam múltiplas transfusões (**Figura 6**), e podem ser evitadas utilizando-se um pré-tratamento com um anti-histamínico. Concentrados comerciais de FVIII humano ou suíno são hemostaticamente efetivos em animais (Day et al., 2001), mas a administração de proteínas análogas induzem a formação de anticorpos e há risco de anafilaxia após a infusão (Littlewood e Barrowcliffe, 1987; Day et al., 2001). As infusões devem ser administradas duas vezes ao dia até que a hemorragia tenha cessado e o hematoma reabsorvido. Uma cobertura antimicrobiana é indicada (Day et al., 2001).

O DDAVP apresenta algum uso no tratamento humano da hemofilia A, promovendo a liberação de quantidades suficientes de FVIII dos hepatócitos na circulação para promover a hemostasia (Manucci, 1988). Infelizmente, o DDAVP é ineficiente para o tratamento de cães, pois não aumenta as concentrações plasmáticas de FVIII (Johnstone, 2002).

Inibidores da fibrinólise podem se úteis no controle das hemorragias em cães hemofílicos, como o uso de oral de ácido tranexâmico a uma dose de 15-20 mg/kg, duas a quatro vezes ao dia. Este medicamento é utilizado no controle de hemorragias externas em pacientes humanos hemofílicos e, devido ao risco de complicações tromboembólicas, não deve ser usado no controle de hemorragias internas. Este risco, no entanto, parece ser mínimo em pacientes veterinários, provavelmente por apresentarem um mecanismo fibrinolítico mais reforçado que os humanos (Day et al., 2001).

Recentemente tem se obtido sucesso no tratamento de hemorragias espontâneas em cães hemofílicos com a transferência gênica e subsequente expressão do FVIIa (Margaritis et al., 2009). No entanto, essa técnica parece ter valor limitado em pacientes com as formas moderada ou leve da doença.

## **6.2 Hemofilia B**

A hemofilia B (doença de Christmas) é causada por uma deficiência funcional ou absoluta do FIX (Mansell, 2000), e já foi descrita em diversas raças de cães, incluindo cruzas, e gatos, e é clinicamente indistinguível da hemofilia A (Verlander et al., 1984; Feldman et al., 1995; Mansell, 2000; Johnstone, 2002; Nakata et al., 2006). O FIX é um importante fator da via intrínseca do mecanismo de coagulação, e uma deficiência desta proteína pode produzir uma desordem hemorrágica severa. Como a deficiência do FVIII, a hemofilia B é uma

deficiência transmitida como um traço recessivo ligado ao sexo, mas é um defeito genético muito menos comum (Dodds, 1983; Johnstone, 2002).

Quando ativado pelo FXI, o FIX forma um complexo com o FVIII, cálcio, e fosfolípídeos que rapidamente ativam o FX por clivagem enzimática. A deficiência do FIX resulta em lenta ativação do FX com subsequente má estabilização do plugue plaquetário pela fibrina, e tal plugue é enfraquecido e tende à desintegração (Mansell, 2000). O gene que codifica o FIX está situado no cromossomo sexual X. Uma mutação de substituição de base e uma mutação envolvendo deleção e transição no gene do FIX já foram descritas em animais (Evans et al., 1989; Mauser et al., 1996). Os sinais clínicos são semelhantes aos observados na hemofilia A, mas apresentam-se mais severos em raças maiores e pacientes mais ativos (Mansell, 2000).

O perfil laboratorial dos testes de rotina (contagem plaquetária, TSMB, TP e TCT normais; TTPA e TCA prolongados) é idêntico ao esperado na hemofilia clássica (Johnstone, 2002). Um TTPA com adição de plasma ou soro pode permitir a diferenciação. O TTPA prolongado de ambas hemofilias pode ser corrigido pela adição plasma fresco de pacientes normais. Porém, a adição de soro fresco de pacientes normais (o qual contém FIX, mas não contém FVIII) corrige somente o TTPA da hemofilia B (Mansell, 2000). No entanto, o diagnóstico definitivo é feito pela quantificação do FIX (Johnstone, 2002).

Diferentemente da variação da atividade coagulante do FVIII observada nos animais com hemofilia clássica, a maioria dos pacientes com hemofilia B possui baixos valores de atividade coagulante do FIX (5 U/dL ou menos; atividade menor que 1%). Os carreadores heterozigotos possuem atividade do FIX entre 40 e 60 U/dL, sendo estes valores menores que a concentração mínima do intervalo de referência normal (60 U/dL), possibilitando a identificação desses animais (Mansell, 2000; Johnstone, 2002).

Os manejo dos pacientes portadores de hemofilia B são os mesmos citados para os animais que portam a forma clássica da doença. O tratamento dos episódios hemorrágicos é feito com base em transfusão de sangue total fresco ou plasma fresco. O crioprecipitado não deve ser utilizado, pois não contém FIX (Mansell, 2000; Johnstone, 2002). Métodos virais e não virais de transferência gênica têm sido estudados para a correção da deficiência (Kay et al., 1994; Fallaux et al., 1995; Margaritis et al., 2009).



### **6.3 Deficiência de Fator I**

As deficiências congênitas de fibrinogênio (FI) podem ser quantitativas (hipofibrinogenemia) ou qualitativas (disfibrinogenemia), e já foram descritas em São Bernardos, Borzois e Collies, além de gatos. A deficiência tem transmissão hereditária de padrão autossômico recessivo. O fibrinogênio é uma grande proteína que funciona como substrato para a trombina e é o precursor da fibrina (Johnstone, 2002).

É uma desordem que se apresenta de moderada a muito severa, caracterizada por hematomas superficiais, claudicação, epistaxe e hemorragias espontâneas ou após trauma ou cirurgia (Dodds, 1983; Johnstone, 2002). Apesar das avaliações plaquetárias serem normais, todos os testes de coagulação das vias intrínsecas e extrínsecas (TP, TTPA, TCA, TCT) estarão prolongados (Johnstone, 2002). Nos casos de hipofibrinogenemia, as dosagens de fibrinogênio estão baixas ou indetectáveis, mas normais quantidades do FI podem ser encontradas em pacientes portadores de desfibrinogenemia, quando mensurado por métodos físicos ou imunológicos (Dodds, 1983).

Plasma fresco (congelado ou não) pode ser usado para o tratamento dos episódios hemorrágicos, mas os níveis terapêuticos de fibrinogênio são difíceis de serem mantidos sem que ocorra hipervolemia. Crioprecipitado, que contém aproximadamente 10 vezes a concentração de fibrinogênio presente no plasma fresco, é uma terapia muito mais útil (Johnstone, 2002).

### **6.4 Deficiência de Fator II**

A deficiência funcional de protrombina (FII) é rara e foi descrita em Boxers e Cockers Spaniels. Tem sua transmissão como um traço autossômico recessivo. A protrombina é uma proteína vitamina K dependente, e funciona como um precursor da trombina, a principal enzima produzida quando o mecanismo de coagulação é ativado (Johnstone, 2002).

Hemorragia severa (epistaxe e hemorragia umbilical) pode estar presente em filhotes recém-nascidos. Cães adultos jovens podem apresentar moderadas hemorragias na superfícies mucosas. Os testes plaquetários (contagem plaquetária e TSMB) e o TCT estão usualmente normais, enquanto que os TP, TTPA e TCA estão prolongados nos cães afetados. Plasma fresco ou plasma fresco congelado são as melhores opções para o tratamento das hemorragias (Johnstone, 2002).

## 6.5 Deficiência de Fator VII

A deficiência de FVII é reconhecida em certas famílias de Beagles de laboratório e também já foi descrita em outras raças e em raças mistas, além de gatos (Day et al., 2001, Baker, 2007). A deficiência de FVII costuma ser descoberta durante exames de rotina em canis comerciais de Beagles antes de serem usados em pesquisas (Dodds, 1983). A doença tem um traço autossômico recessivo e somente os indivíduos homozigotos costumam apresentar sinais de sangramento. O FVII é um fator de coagulação chave na via extrínseca da coagulação, pois forma um complexo com o fator tecidual na presença de íons de cálcio, funcionando como um ativador do FX (Johnstone, 2002).

A diátese hemorrágica varia de leve a moderadamente severa, com sinais de sangramentos excessivos pós-operatórios e hematúria. O perfil laboratorial inclui contagem plaquetária, TSMB, TCA, TTPA e TCT normais na presença de significativo prolongamento do TP. Testes especializados como o TVVR, podem ser usados para confirmar a deficiência do fator. A correção do TP após o uso do veneno de víbora de Russell, um ativador direto do FX, sustenta o diagnóstico de deficiência de FVII (Johnstone, 2002). Os pacientes homozigotos apresentam atividade do FVII menor que 3 % e TP prolongado, e os heterozigotos, atividade de FVII reduzida (próxima a 50%) e TP normal (Dodds, 1983).

Os sinais clínicos da deficiência são geralmente leves, e quando presentes pouco ou nenhum tratamento é necessário. Transfusões de plasma fresco, suportes terapêuticos como pressão aplicada sobre o local da hemorragia, uso de agentes hemostáticos locais e restrição de atividade física podem auxiliar no controle de qualquer episódio hemorrágico (Johnstone, 2002).

## 6.6 Deficiência de Fator X

A deficiência do FX (fator de Stuart-Power) foi relatado em uma família de Cockers Spaniel americanos, em um Jack Russell Terrier e em gatos (Day et al., 2001). Acredita-se que seja transmitida como um traço autossômico dominante. O FX tem uma meia-vida circulante relativamente longa, de 20 a 40 horas, e é um fator dependente de vitamina K. Esta proteína da coagulação é ativada tanto pela via intrínseca quanto pela via extrínseca. O FX forma um complexo protrombinase quando ligado ao FVa e íons de cálcio na membrana de

fosfolípídeos das plaquetas ativadas. Este complexo é responsável pela conversão de protrombina em trombina (Johnstone, 2002).

A deficiência é caracterizada por uma alta incidência de natimortos e morte neonatal (síndrome do filhote enfraquecido). Os sinais são semelhantes aos observados na hemofilia clássica, com possibilidade da presença de sangramentos severos, moderados ou leves (Johnstone, 2002). Como o FX pertence à via comum da coagulação, tanto o TP quanto o TTPA estão prolongados (além do TCA), mas o TCT está normal, assim como as avaliações plaquetárias. O TVVR está prolongado, e o diagnóstico é confirmado com dosagem específica de FX (Day et al., 2001).

As hemorragias associadas à deficiência de FX são bem controladas com transfusão de plasma fresco ou plasma fresco congelado, administradas diariamente, enquanto necessárias (Johnstone, 2002).

## **6.7 Deficiência de Fator XI**

A deficiência do FXI se apresenta uma hemorragia severa e, muitas vezes letal. A condição foi descrita em algumas raças puras de cães (Weimaraner, Springer Spaniel, Cão dos Pirineus) e é transmitida como um traço autossômico recessivo (Day et al., 2001; Johnstone, 2002). A atividade do FXI nos homocigotos é menor que 10% do normal, e estes podem apresentar sinais de hemorragia prolongada após trauma ou cirurgia (podendo ter apresentação tardia), hematomas subcutâneos, epistaxe, melena e hematúria. Os heterocigotos possuem atividade do FXI entre 35 e 70% do normal, e são geralmente assintomáticos (Johnstone, 2002).

O diagnóstico da doença é baseado em contagem plaquetária, TSMB, TP e TCT normais, mas um significativo prolongamento do TTPA e do TCT. A quantificação específica do FXI é necessária para confirmar o diagnóstico. Transfusão de sangue fresco ou plasma fresco (preferencialmente) ou sobrenadante de crioprecipitado são os tratamentos de escolha para os episódios hemorrágicos severos. Múltiplas transfusões podem ser necessárias para controlar a hemorragia. Pequenas cirurgias podem ser realizadas com segurança se for adotado um cuidado adicional para garantir a hemostasia local (Johnstone, 2002).

## **6.8 Deficiência de Fator XII**

Deficiência de FXII (traço Hageman) já foi descrita em gatos, Poodles Standard e Pointers alemães de pelo curto. É transmitida por herança atossômica recessiva. o FXII participa da ativação inicial da via intrínseca da coagulação. No entanto, animais com deficiência de FXII não possuem tendência a apresentar uma doença clínica (Johnstone, 2002; Baker, 2007). A ausência de detecção biológica ou imunológica do FXII é um fenômeno normal em vários outros vertebrados, como baleias, pássaros, répteis e possivelmente peixes, sem causar efeitos adversos (Baker, 2007).

Frente aos testes plaquetários e de coagulação, somente o TCA e TTPA estão prolongados. Frequentemente esta desordem é um achado acidental em pacientes submetidos a avaliação de rotina devido a outros defeitos na hemostasia que podem ocorrer concomitantemente (Johnstone, 2002).

### **6.9 Deficiência de Fatores Vitamina K Dependentes**

A coagulopatia multifatorial dependente de vitamina K foi descrita em famílias de gatos da raça Devon Rex (Maddison et. al, 1990). Os sinais clínicos incluem hemorragia prolongada após cirurgia e trauma, apesar do risco de hemorragia ser variável entre os indivíduos. Gatos de ambos os sexos são acometidos. Ocorre prolongamento do TP e do TTPA com reduzida atividade de todos os fatores dependentes de vitamina K. Fatores II, IX e X estão reduzidos a menos de 20% do normal, e o FVII a menos de 50% do normal. Investigações bioquímicas demonstram que o defeito se deve a uma deficeência hepática no metabolismo da vitamina K. Uma herança de padrão autossômico recessivo foi proposta (Day et al., 2001).

A administração de vitamina K1 (fitomenadiona) via oral em dose de 5 mg diariamente corrige com sucesso a anormalidade dos fatores de coagulação e controla a diátese hemorrágica. Pode ser administrada por longo prazo (Day et al., 2001).

A prevalência na raça é desconhecida, mas a avaliação do TP é um teste simples para investigar animais afetados. Esses gatos devem ser removidos de programas de cruzamentos, mas tratados profilaticamente com vitamina K1 para prevenir hemorragias (Day et al., 2001).

## 7. COAGULOPATIAS ADQUIRIDAS

### 7.1 Intoxicação por Anticoagulantes Rodenticidas

Uma das causas mais comuns de coagulopatia adquirida em cães e gatos é a ingestão acidental de um anticoagulante rodenticida. Os anticoagulantes derivados cumarínicos de primeira geração, varfarina, possuem uma meia vida curta de aproximadamente 12 horas e toxicidade relativamente baixa em espécies não-alvo (Johnstone, 2002). Geralmente uma exposição a altas doses ou a doses repetidas é necessária para produzir um sangramento clínico. Os derivados cumarínicos de segunda geração (brodifacoum, bromadiolona, difaciona, etc.) e rodenticidas indandiônicos (pindona e difacinona), desenvolvidos em resposta à resistência à varfarina nas espécies-alvo, são muito mais potentes que a varfarina (Johnstone, 2002; Dallegrave e Sebben, 2008). Esses compostos possuem efeitos mais duradouros (meia-vida de 4 a 6 dias) por possuírem ligações mais completas com as proteínas plasmáticas e, comparados à varfarina, apresentam uma grande tendência a se depositarem no tecido hepático. Envenenamento secundário à ingestão de espécies-alvo mortas são mais comuns de ocorrerem com esses agentes (Johnstone, 2002).

Os derivados cumarínicos exercem seu efeito anticoagulante pela inibição da enzima vitamina K epóxido-redutase, componente do ciclo vitamina K-epóxido, necessário para a síntese hepática dos fatores FII, FVII, FIX e FX (Johnstone, 2002). Esses fatores são sintetizados em uma forma afuncional (acarboxiladas) e sofrem uma reação de carboxilação em que a vitamina K participa como cofator, produzindo centro de ligação para o cálcio, necessário para sua função normal. Durante esta reação a vitamina K é convertida num metabólito inativo (vitamina K-epóxido). A enzima vitamina K epóxido-redutase é responsável pela reciclagem deste metabólito, convertendo-o para a forma ativa ( $K_1$ ), razão pela qual a necessidade diária de vitamina K é pequena (Lopes et al., 2007). A inibição desta enzima leva ao acúmulo do metabólito inativo e impede a carboxilação das proteínas de coagulação vitamina K dependentes. Assim, os fatores são incapazes de serem ativados durante a coagulação e não podem participar da formação de fibrina (Johnstone, 2002).

O diagnóstico de intoxicação por rodenticida anticoagulante depende do histórico e do exame clínico do paciente, e de testes de hemostasia apropriados. Os sinais clínicos são observados após vários dias da exposição quando as concentrações dos fatores vitamina K dependentes são depletados (Johnstone, 2002). Os sintomas podem ser inespecíficos se o paciente possuir hemorragia interna, e podem incluir depressão, fraqueza, palidez, dispnéia,

aumento abdominal e inclusive morte súbita, normalmente por hemorragia no sistema nervoso central ou pericárdica. Os sangramentos mais comuns são os intratorácicos e os intrapulmonares (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). Outros sinais clínicos possíveis incluem anemia (regenerativa se decorrido tempo suficiente desde o episódio de sangramento agudo), hipoproteinemia, hematomas externos, equimoses, sangramento excessivo em locais de venopunção ou de traumas, epistaxe, hematemese, hematoquezia, melena, hematúria e claudicação (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002).

Se o rodenticida foi ingerido minutos a horas antes do atendimento, a indução de vômito e a administração de carvão ativado podem eliminar ou neutralizar a maioria dele. Se a ingestão for questionável e não houver sinal clínico de coagulopatia, é recomendada a realização de testes de coagulação (Nelson e Couto, 2001).

Os testes de coagulação não mostram alterações nas primeiras 36 a 72 horas pós-exposição. O TP geralmente se torna prolongado primeiro (entre 36 e 48 horas), pois o FVII, componente da via extrínseca da cascata de coagulação, tem a meia-vida mais curta (aproximadamente 6 horas) e é o primeiro fator a ter seus estoques depletados. O TTPA e o TCA ficam prolongados após 48 a 72 horas da exposição. O TCT, a contagem plaquetária e o TSMB estão usualmente normais (Johnstone, 2002). A contagem plaquetária pode estar reduzida (70.000 a 125.000/ $\mu$ L), provavelmente por consumo excessivo de plaquetas (Nelson e Couto, 2001).

As proteínas chamadas de proteínas induzidas por antagonistas da vitamina K (PIAVK) são proteínas acarboxiladas formadas como resultado da toxicidade do anticoagulante rodenticida. As PIAVK não são encontradas normalmente na circulação, mas aumentam suas concentrações em casos de animais intoxicados e podem ser detectadas usando testes laboratoriais. AS PIAVK são eliminadas da circulação após 12 horas da administração de vitamina K. Esses testes podem auxiliar na detecção precoce de toxicidade por rodenticidas (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). As amostras para testes de coagulação devem ser coletadas antes do início da terapia com vitamina K (Johnstone, 2002).

Outras possibilidades de testes confirmatórios incluem quantificação da concentração de vitamina K-epóxido e determinação do anticoagulante específico no sangue, fígado e/ou conteúdo estomacal (Nelson e Couto, 2001).

A vitamina K está disponível em várias formas, sendo a vitamina K1 a mais eficaz. A vitamina K1 está disponível para uso oral ou parenteral. A administração intravenosa da vitamina não é recomendada, devido ao risco de reações anafiláticas ou da formação de corpúsculos de Heinz, ao passo que as injeções intramusculares em um paciente com

coagulopatia normalmente resultam em formação de hematoma (Nelson e Couto, 2001). A vitamina K3 é inefetiva e não é recomendada para o tratamento desta intoxicação (Johnstone, 2002).

O tratamento da intoxicação é de suporte e direcionado à correção da hipovolemia e coagulopatia. Sangue ou plasma frescos ajudam a corrigir a hipovolemia e melhoram a hemostasia pela restauração dos fatores de coagulação consumidos. A administração de vitamina K1 (com agulha de calibre 25) com uma dose de ataque de 5 mg/kg deve ser feita em subcutaneamente em múltiplos locais, seguida de administração de doses de 2,5 mg/kg subcutânea ou oral após 8 horas, 3 vezes ao dia, até a toxina ser metabolizada e excretada (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). Como a vitamina K é lipossolúvel, a administração oral deve ser acompanhada de refeição gordurosa (Nelson e Couto, 2001).

A duração do tratamento irá depender do anticoagulante envolvido (1 semana para anticoagulantes de primeira geração e 3 a 6 semanas para anticoagulantes de 2ª ou 3ª geração). Inicialmente uma terapia de uma semana deve ser adotada. O TP e o TTPA devem ser avaliados 48 a 72 horas após cessada a terapia de vitamina K1. Em caso de anticoagulantes persistentes, estes testes provavelmente se mostrarão prolongados novamente, indicando um efeito tóxico residual e a necessidade de contínua terapia com vitamina K1 por mais duas semanas, e reavaliação do TP após esse período. Nos casos intensos, o TP deve ser acompanhado a cada 8 horas até se normalizar (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002).

Pacientes hipocoaguláveis estão sob grande risco de hemorragia interna. A atividade física deve ser minimizada e sua condição monitorada constantemente. Administração de drogas com efeito antiplaquetários está contraindicada, assim como a administração de injeção intramuscular (Johnstone, 2002).

## 7.2 Intoxicação por Veneno Botrópico

No Brasil, os ofídios peçonhentos pertencem aos gêneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis* (família Viperidae) e *Micrurus* (família Elapidae) (Grunert e Grunert, 1969; Soerensen, 1990). No Rio Grande do Sul, as principais serpentes peçonhentas são: *Bothrops jararaca* (jararaca), *B. alternatus* (cruzeira ou urutu), *B. cotiara* (cotiara ou jararaca preta), *B. neuwied* (jararaca pintada ou jararaca do rabo branco), *Crotalus durissus terrificus* (cascavel), *Micrurus altirostris* (coral) e *M. frontalis* (coral, coral vermelha ou coral verdadeira) (Raposo et al., 2000). Dentre estas somente o gênero *Bothrops* possui toxina com ação coagulante (Dallegrave e Sebben, 2008).

A maioria dos acidentes ofídicos no Brasil ocorre por picadas *Bothrops* spp (Barravieira e Pereira, 1994). Os ofídios desse gênero habitam lugares diversos, incluindo margens de rios, plantações, pastagens, periferia de cidades e locais com altas populações de roedores. Estas serpentes possuem hábitos principalmente noturnos e são agressivas, erguendo o terço anterior do corpo, atacando subitamente sem serem percebidas. O temperamento e o habitat desses animais influenciam consideravelmente na casuística dos acidentes botrópicos (Grunert e Grunert, 1969; Soerensen, 1990).

Dentre as espécies de animais domésticos, os caninos são os mais freqüentemente picados por ofídios em função do seu comportamento investigativo; no entanto, várias outras espécies são afetadas ocasionalmente. Os animais são picados principalmente na cabeça, porém, picadas nos membros também são comuns. Animais grandes são mais resistentes ao veneno que animais pequenos, porque a quantidade de veneno necessária para produzir a morte é maior (Grunert e Grunert, 1969; Radostits et al., 1994).

A maioria dos acidentes com serpentes no Rio Grande do Sul ocorre durante a primavera e o verão (Raposo et al., 2000). O veneno de *Bothrops* spp. causa um quadro que inclui: imediata e intensa lesão tissular local (edema, hemorragia e mionecrose); alterações vasculares (hemorragia e choque hipovolêmico), desordens de coagulação (consumo de fibrinogênio) que podem levar a uma lesão renal aguda (Barravieira e Pereira, 1994; Kamiguti et al., 1996).

Os sinais clínicos incluem um processo inflamatório causado pelas frações proteolíticas do veneno caracteriza-se por edema e dor na região da picada. O veneno botrópico possui ações proteolítica, coagulante e hemorrágica, sendo os distúrbios hemostáticos e os sinais locais como edema, hemorragia e necrose as principais manifestações clínicas observadas (Maruyama et al., 1990; Sanchez et al.; 1992). Segundo Dallegrave e Sebben (2008), é muito importante dar atenção ao histórico do paciente a atentar para uma possível identificação da serpente envolvida (acidente botrópico, crotálico ou elapidídico).

A ação necrosante decorre da ação citotóxica direto nos tecidos por frações proteolíticas do veneno. Pode haver liponecrose, mionecrose e lise das paredes vasculares. Essa ação tem relação direta com a quantidade de veneno inoculada. As lesões locais como rubor, edema, bolhas e necrose estão presentes, porém não se pode esquecer que essas lesões podem ser potencializadas por eventuais infecções secundárias (Barravieira, 1999). A necrose é manifestação local mais importante e se limita ao subcutâneo, mas pode comprometer estruturas mais profundas, como tendões, músculos e ossos, podendo causar distrofias e deixar seqüelas (Lomonte et al., 1990; Selistre et al., 1990).



A fração do veneno botrópico que possui ação coagulante atua de maneira diferente à trombina fisiológica, devido ao fato de não ser neutralizada pela heparina. Ocorre ativação da cascata de coagulação, cujo resultado final será o consumo de fibrinogênio com incoagulabilidade sanguínea, restaurada após horas de tratamento adequado. Quando ocorre ativação do fator X há também consumo dos fatores V, VII e consumo de plaquetas, levando a produção de quadro de coagulação intravascular disseminada (CID), com formação e deposição de microtrombos na rede capilar, o que pode contribuir para desencadear uma insuficiência renal aguda (Barravieira, 1999).

As alterações de coagulação podem ser avaliadas por prolongamento do TP e do TTPA em envenenamentos botrópicos, com consumo de protrombina e fibrinogênio (Haad, 1981). Em um estudo com cães, após 40 minutos de inoculação de veneno botrópico o sangue colhido não coagulou e houve decréscimo nos níveis de fibrinogênio plasmático. A via intrínseca da coagulação também sofreu alteração (Perez et al., 1997). As alterações no tempo de coagulação ocorrem com mais frequência nos acidentes causados por filhotes de *Bothrops* spp, cujo veneno possui uma atividade coagulante mais intensa (Barravieira, 1999).

A ação vasculotóxica é causada por fatores hemorrágicos do veneno denominados hemorraginas. Estes agem sobre vasos capilares, destruindo inicialmente a membrana basal e causando posteriormente sua ruptura. A ação das hemorraginas explica muitos casos de hemorragias sistêmicas, algumas vezes fatais, mesmo na ausência de distúrbio de coagulação (Barravieira, 1999).

Além da formação dos microtrombos pelas ações coagulantes e vasculotóxicas que são capazes de provocar isquemia, a insuficiência renal pode se instalar por ação direta ou secundária em situações em que o choque está presente. A administração de soro antiofídico deve ser iniciada rapidamente após a intoxicação para que a neutralização dos efeitos sistêmicos obtenha sucesso, porém a neutralização da lesão tecidual local é mais difícil. Em um número de casos de picada de serpentes, a dificuldade de neutralizar os efeitos locais resultou em permanente seqüela, com perda tecidual (Barravieira, 1999).

O soro antiofídico polivalente é uma solução purificada de imunoglobulinas específicas, obtidas a partir do soro de equídeos hiperimunizados com veneno de serpente dos generos *Bothrops* e *Crotalus*. Segundo o fabricante (Laboratório Vencofarma do Brasil Ltda), o protocolo para administração preconiza que em casos benignos sejam injetadas 5 ampolas pela via SC, em casos médios injetar 10 ampolas sendo 5 pela via SC e 5 por via IV e em casos graves injetar 5 ampolas por via SC e 15 por via IV, a critério do médico veterinário. É fundamental seguir monitorando os sinais vitais.

Além do tratamento específico (soroterapia antiofídica), os aspectos discutidos anteriormente evidenciam a necessidade de um tratamento de suporte inespecífico, que inclui fluidoterapia, antibioticoterapia, antiinflamatório e corticóides.

### 7.3 Coagulação Intravascular Disseminada

A coagulação intravascular disseminada (CID), previamente chamada de coagulopatia de consumo ou síndrome de desfibrinação, é uma condição com potencial risco de morte que geralmente se desenvolve secundariamente a uma doença primária que de alguma forma lesiona a vasculatura ou libera os fatores teciduais procoagulantes ou outros ativadores na circulação (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). A coagulação intravascular excessiva causa microtrombose em múltiplos órgãos e sangramento paradoxal decorrente de inativação ou consumo de plaquetas e fatores de coagulação secundários à fibrinólise intensa. Essa síndrome é relativamente comum em cães e gatos (Nelson e Couto, 2001).

A CID pode ser aguda ou crônica, localizada ou generalizada. É um processo complexo envolvendo aceleração da ativação das proteínas de coagulação e plaquetas, o excessivo consumo e degradação dos fatores induzida pela plasmina, reforço da atividade anticoagulante endógena e aceleração da fibrinólise (Johnstone, 2002). Uma variedade de distúrbios são comumente associados com CID em cães e gatos (**Tabela 4**).

Tabela 4 – Distúrbios associados à CID, em ordem relativa de frequência, em cães e gatos

| <b>Cães</b>                    | <b>Gatos</b>                        |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| Hemangiossarcoma               | Doença hepática                     |
| Sepse                          | Neoplasia (principalmente linfomas) |
| Anemia hemolítica imunomediada | Peritonite infecciosa felina        |
| Pancreatite                    |                                     |
| Eletrocussão                   |                                     |
| Intermação                     |                                     |
| Dirofilariose                  |                                     |
| Outras malignidades            |                                     |

Fonte: Nelson e Couto, 2001, p. 943.

A coagulação pode ser acelerada quando: componentes sanguíneos entram em contato com áreas de lesão tecidual ou vascular (exposição aos fatores teciduais ou ativadores de superfície como o colágeno); quando os fatores hemostáticos são expostos a uma quantidade significativa de leucócitos, mediadores inflamatórios circulantes ou citocinas; quando os fatores de coagulação são expostos a altas concentrações de fosfolípídeos plaquetários ou eritrocíticos; e/ou quando os fatores de coagulação entram em contato com debris celulares circulantes (Johnstone, 2002).

A melhor maneira de entender a fisiopatologia da CID é pensar em todo o sistema vascular como um vaso sanguíneo único e gigante e na patogenia do distúrbio como uma exacerbação do mecanismo hemostático normal. Embora esses eventos sejam descritos sequencialmente, a maioria deles ocorrem simultaneamente e a intensidade de cada um varia com o tempo, tornando-se desta forma um processo extremamente dinâmico (Nelson e Couto, 2001).

Primeiramente, a coagulação acelerada leva à trombose em múltiplos pequenos vasos simultaneamente, que por sua vez causa estase capilar e isquemia (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). Durante essa coagulação intravascular excessiva, as plaquetas são consumidas em grandes quantidades, resultando em trombocitopenia (Nelson e Couto, 2001). Segundo, o sistema fibrinolítico é ativado, resultando em lise dos coágulos, inativação ou lise dos fatores de coagulação e supressão da função plaquetária, pelo acúmulo de PDF (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). Terceiro, a ATIII e possivelmente as proteínas C e S são consumidas na tentativa de deter a coagulação intravascular, ocorrendo assim “exaustão” dos anticoagulantes naturais (Nelson e Couto, 2001), a fibrinólise é estimulada e os produtos de degradação da fibrina (PDF) se acumulam. A plasmina degrada mais fatores de coagulação. (Johnstone, 2002). Quarto, a formação de fibrina na microcirculação resulta no desenvolvimento de anemia hemolítica à medida que as hemácias são rompidas por esses filamentos de fibrina, formando esquistócitos (Nelson e Couto, 2001). O resultado é uma hemorragia incontrolável (Johnstone, 2002).

Além disso, a perfusão tecidual prejudicada resulta no desenvolvimento dos estimuladores secundários da CID, incluindo hipóxia, acidose, disfunção hepática, renal e pulmonar, e a liberação do fator depressor do miocárdio. A função do sistema fagocítico mononuclear também está prejudicada, de modo que os PDF e outros subprodutos, bem como bactérias absorvidas do intestino, não podem ser eliminados da circulação (Nelson e Couto, 2001).

Os sinais clínicos variam de acordo com a duração e a severidade da causa inicial, e com a magnitude das mudanças induzidas na coagulação. Sinais de microtrombose na vasculatura são mais difíceis de serem reconhecidos que os sinais associados com falha extensa do mecanismo hemostático (hemorragia incontrollável). Consequentemente, no momento em que a CID é identificada, geralmente está em uma fase hemorrágica bem avançada. Nesta fase, a síndrome é difícil de ser controlada ou revertida (Johnstone, 2002).

A CID pode se apresentar de três formas: subaguda, crônica (subclínica) ou aguda (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002).. No estágio subagudo (hipercoagulabilidade), sinais da síndrome podem estar ausentes ou, possivelmente, somente sinais não específicos de disfunção de órgãos. Os resultados de testes de coagulação podem estar normais ou até diminuídos, e a contagem plaquetária pode estar normal (Johnstone, 2002).

A forma aguda (e fulminante) pode representar um fenômeno agudo verdadeiro (por exemplo, após intermação, eletrocussão ou pancreatite aguda) ou, mais comumente, representa a descompensação aguda de um processo crônico e silencioso (Nelson e Couto, 2001). Na fase aguda, uma excessiva tendência hemorrágica começa a se tornar aparente. Os animais sangram de qualquer ou todos orifícios corporais, apresentam equimoses facilmente, além de sangrarem excessivamente em locais de venopunctura ou em outros locais de trauma tecidual, mas também podem apresentar sinais de sangramentos secundários, como em cavidades corpóreas (Nelson e Couto, 2001; Johnstone, 2002). Todos os testes de coagulação (TCA, TTPA, TP e TCT) tornam-se prolongados pela depleção dos fatores devido ao excessivo consumo e/ou degradação. Pode ocorrer acúmulo dos PDF na circulação até níveis detectáveis se a taxa de produção exceder a capacidade hepática de eliminação destes produtos. Isto contribui para o estado de hipocoagulabilidade por exercerem tanto efeitos anticoagulantes quanto atiplaquetários (Johnstone, 2002).

Na forma crônica o animal apresenta uma avaliação clinicopatológica do sistema hemostático com alterações compatíveis com a síndrome, que parece ser comum em cães com malignidade ou outros distúrbios crônicos (Nelson e Couto, 2001). A forma crônica pode causar contínua e lenta ativação do mecanismo hemostático com poucos, se presentes, sinais de hemorragia, e pode ser extremamente difícil de detectar e confirmar. Os valores de plaquetas, a detecção de PDF, e os testes de coagulação podem estar normais (se a reposição se equilibrar ao consumo) ou anormais. A quantificação seriada da atividade plasmática da AT III (concentração diminuída na síndrome) pode ser útil no diagnóstico de CID e no acompanhamento do tratamento. No entanto, o custo e a disponibilidade deste teste excluem sua utilização na maioria dos pacientes veterinários (Johnstone, 2002).

Vários achados hematológicos auxiliam a garantir um diagnóstico presuntivo de CID e incluem anemia hemolítica regenerativa (aregenerativa em casos em que o animal possua um distúrbio crônico, como câncer), hemoglobinemia, esquistocitose, trombocitopenia, neutrofilia com desvio à esquerda e raramente neutropenia (Nelson e Couto, 2001).

As alterações bioquímicas incluem hiperbilirrubinemia (secundária à hemólise ou trombose hepática), azotemia e hiperfosfatemia (se microembolização grave tiver ocorrido), aumento das enzimas hepáticas (hipóxia ou microembolização hepática), aumento do teor de dióxido de carbono ocasionado por acidose metabólica e hipoproteinemia, se o sangramento for grave o suficiente (Nelson e Couto, 2001).

A urinálise normalmente revela hemoglobinúria e bilirrubinúria e ocasionalmente proteinúria e cilindrúria. As amostras de urina de pacientes com CID aguda não devem ser obtidas por cistocentese, porque pode ocorrer sangramento intravesical ou intraperitoneal (Nelson e Couto, 2001).

A chave para o sucesso do tratamento da CID está no reconhecimento precoce e intensiva terapia. Dito isto, o prognóstico para animais em qualquer uma das fases da síndrome é geralmente grave (Johnstone, 2002). A remoção ou eliminação da causa precipitante constitui o principal objetivo terapêutico em pacientes com CID. Contudo, isto é raramente possível. As condições nas quais as causa podem ser eliminadas incluem hemangiossarcoma primário (excisão cirúrgica) hemangiossarcoma disseminado ou metastático (quimioterapia), sepsis (antimicrobiano terapia) e anemia hemolítica imunomediada (tratamento imunossupressivo). Na maioria das outras situações (eletrocussão, intermação, pancreatite, por exemplo) a causa raramente pode ser eliminada em curto período (Nelson e Couto, 2001).

Um tratamento agressivo e imediato sempre é necessário para o controle da CID. O princípio mais importante é remover ou inibir o processo que deu início à síndrome. Remover o estímulo procoagulante reduz significativamente a coagulação intravascular e aumenta as chances de controlar a trombose e hemorragia. Hipovolemia, hipóxia, endotoxemia e acidose contribuem para o desenvolvimento da doença, e devem ser tratados apropriadamente (**Quadro 4**). A falha em remover ou reduzir a doença inicial quase sempre resulta no insucesso do tratamento da CID (Day et al., 2001).

O segundo princípio do tratamento da CID é limitar o processo de coagulação. Uma abordagem lógica do tratamento da CID é dividir as opções de tratamento de acordo com a severidade do processo, baseado nos sinais clínicos e resultados laboratoriais do paciente. A doença primária deve ser diagnosticada e tratada prontamente. Se o tratamento for demorado

ou não for capaz de cessar a coagulação intravascular, então a coagulopatia deve ser abordada (Day et al., 2001).

| <b>Princípio do tratamento</b>             | <b>Ação</b>   |
|--|---|
| <b>Etiologia específica</b>                |   |
| Diagnóstico da doença inicial              | Instituição do tratamento e estabelecimento do prognóstico  |
| <b>Melhoria do fluxo microcirculatório</b> |   |
| Expansão do volume                         | Fluido intravenoso<br>Correção da anemia e da hipoalbuminemia com transfusão de sangue total ou plasma<br>Uso de expansores plasmáticos (Pentastarch, 20 mL/kg/dia)   |
| Suporte cardíaco                           | Dobutamina (5-10 µg/kg/min, infusão IV)<br>Monitorar arritmias com eletrocardiograma  |
| Suporte renal (se estiver oligúrico)       | Dopamina (2-5 µg/kg/min, infusão IV) e furosemida 2-5 mg/kg, IV<br>Monitorar fluidoterapia, pressão venosa central e produção de urina  |
| Acidose metabólica                         | Bicarbonato de sódio  |
| Hipóxia                                    | Suplementação de oxigênio   |
| <b>Tratamento da coagulopatia</b>          |   |
| CID aguda e fulminante                     | Transfusão de sangue total ou plasma frescos (podem ser necessárias várias transfusões de plasma para restaurar a concentração de ATIII)<br>Heparina: 50-100 UI/kg na primeira bolsa (incubação de 30 minutos antes da transfusão)<br>Heparina: 250-500 UI/kg, SC, a cada 8 horas<br>Monitorar ATII,TP e TTPA se possível |
| CID subaguda                               | Heparina: 75-150 UI/kg, SC, a cada 8 horas  |
| CID crônica                                | Heparina: 25-150 UI/kg, SC, a cada 8 horas  |

Quadro 4 – Tratamento da CID

Fonte: Day et al., 2001, p. 258.

Deve-se ter em mente que é a trombose, e não a hemorragia, que é mais frequente no processo, e tem um efeito maior na mortalidade da CID. A trombose desenvolve-se em pequenos vasos e costuma manifestar-se como falência progressiva dos órgãos. O uso de heparina subcutânea é comum em pacientes com CID, sendo a dosagem baseada na severidade da condição (**Quadro 4**). O uso de baixas doses de heparina subcutânea proporciona a vantagem de fácil administração e evita as complicações associadas com o rápido aumento e decréscimo da concentração de heparina circulante associada à terapia endovenosa (Day et al., 2001).

O tratamento da CID possui muitas controvérsias, pois a terapia com heparina pode aumentar a hemorragia e a reposição de fatores pode potencializar a trombose e a geração de PDF. Se a CID fulminante estiver presente, o paciente deve receber reposição de fatores através de transfusão de sangue total ou plasma frescos. O uso isolado de heparina tem efeito mínimo quando as concentrações de ATIII estão severamente reduzidas. O desenvolvimento de hemorragia na CID sugere consumo exaustivo de plaquetas, fatores de coagulação e anticoagulantes naturais, particularmente a ATIII. Nesta situação a transfusão de sangue ou plasma frescos é necessária para a reposição dos fatores de coagulação e da ATIII. A heparina pode ser administrada para prevenir o consumo dos fatores de coagulação administrados e potencializar o efeito da ATIII infundida (Day et al., 2001).

Um problema potencial associado ao uso de sangue total ou plasma para reposição de fatores é a rápida degradação dos fatores de coagulação, particularmente o fibrinogênio, pela plasmina. A subsequente geração de PDF pode futuramente exacerbar a hemorragia, e a formação de trombos de fibrina pode comprometer a microcirculação. Se o paciente permanecer sangrando podem ser necessárias mais transfusões. Normalmente, se a terapia obtém sucesso a hemorragia cessa. Hemorragia contínua, apesar de terapia para a doença de base e terapia racional para CID, é uma indicação de prognóstico ruim e reflete uma falha no controle do processo patológico primário (Day et al., 2001).

## **8. OUTRAS DOENÇAS DA HEMOSTASIA**

### **8.1 Doença Hepática**

O fígado é o principal local de síntese de proteínas pró-coagulantes e anticoagulantes. Além disso, tem papel importante na remoção de metabólitos da coagulação e da ativação fibrinolítica. O acúmulo de PDF no plasma como resultado de hepatopatia pode levar tanto à inibição da produção de fibrina quanto à inibição de função plaquetária. Hepatomegalia pode resultar em excessivo sequestro plaquetário com consequente trombocitopenia (Johnstone, 2002).

Como resultado destes vários efeitos, a doença hepática pode levar a uma importante redução da função hemostática, afetando as respostas primária e secundária. A natureza da hemorragia e os efeitos nos testes plaquetários e de coagulação são variáveis, e dependem da causa, severidade e cronicidade da doença hepática. O prognóstico a longo prazo para animais com doença hepática é, geralmente, ruim (Johnstone, 2002).

### **8.2 Doença Renal**

Hemorragia de mucosas, reduzida retenção plaquetária e prolongamento de TSMB são características de uremia em cães. Estas anormalidades correlacionam-se à extensão da azotemia. A agregação plaquetária pode estar normal ou levemente reduzida, implicando em uma adesão deficiente. A quantidade e a composição dos multímeros do FvW está normal, indicando que o defeito de adesão não deve-se a uma anormalidade do FvW (Day et al., 2001).

A disfunção plaquetária característica da uremia é multifatorial. A contagem plaquetária está normalmente dentro dos valores de referência ou levemente reduzida em pacientes urêmicos. A ligação do fibrinogênio às plaquetas ativadas está comprometida, além da uremia causar uma deficiente produção do complexo FVIII-FvW. Um outro fator importante, é que a uremia reduz as concentrações dos multímeros grandes de FvW. Alguns estudos encontraram um defeito na interação entre FvW e GPIIb/IIIa, que reduz a capacidade de adesão plaquetária ao subendotélio. As plaquetas dos pacientes urêmicos função adesiva anormal, reduzida agregação em resposta a ADP e colágeno e alterações no metabolismo do ácido araquidônico (Salman, 2001).



### 8.3 Doença Vascular

Defeitos primários da vasculatura são uma causa rara de problemas de hemostasia. Estes defeitos são mais comuns de ocorrerem secundariamente como consequência de uma doença subjacente, como por exemplo, vasculite associada ao lúpus eritematoso sistêmico. Os sinais são tipicamente de um defeito na hemostasia primária, apresentando-se como sangramentos de superfícies mucosas. Um perfil laboratorial indica testes de coagulação normais, contagem plaquetária dentro dos valores de referência e um TSMB prolongado, sugerindo a possibilidade de um defeito vascular, desde que a DvW e outras disfunções plaquetária tenham sido descartadas (Johnstone, 2002).

### 8.4 Trombose

Várias situações podem resultar em trombose ou tromboembolismo, incluindo estase sanguínea, ativação da coagulação intravascular em uma área do endotélio anormal ou lesado. Atividade diminuída dos anticoagulantes naturais e fibrinólise diminuída ou prejudicada. A trombose está clinicamente associada com miocardiopatia, hiperadrenocorticismo, enteropatia ou nefropatia com perda de proteína e AHIM (Nelson e Couto, 2001).

Estase do sangue secundária à miocardiopatia hipertrófica parece ser a principal causa de tromboembolismo ilíaco em gatos. Atividade diminuída da ATIII parece ser responsável pelo desenvolvimento de trombose em cães com nefropatia ou enteropatia com perda de proteína, pois a molécula de ATIII é relativamente pequena e pode ser facilmente perdida na urina ou nos conteúdos intestinais em cães com estes distúrbios. A trombose observada em cães com síndrome de Cushing é relacionada ao efeito inibitório de corticosteróides na síntese do ativador de plasminogênio pelos macrófagos. Na AHIM, a liberação de pró-coagulantes pelas hemácias lisadas pode ser a causa de formação de trombos nesta doença (Nelson e Couto, 2001).

Cães e gatos com alto risco de trombose ou tromboembolismo devem receber anticoagulantes, como a heparina (principalmente) e a aspirina. O tratamento da trombose inclui a terapia específica para corrigir o processo patológico primário e os cuidados de suporte para aliviar os sinais de hipoxemia e a perda de perfusão tecidual (Nelson e Couto, 2001).



## 9. CONCLUSÃO

Os distúrbios da hemostasia representam uma importante entidade na clínica de pequenos animais, podendo ser a doença primária ou uma sequela de uma outra patologia subjacente. Frequentemente são encontrados cães e gatos com sinais clínicos indicativos de alterações nos mecanismos da hemostasia. Sinais que nos permitem única e exclusivamente inferir se a deficiência está na hemostasia primária, secundária ou se o paciente apresenta um distúrbio mais complexo, envolvendo todo o processo da hemostasia, como a CID por exemplo. Deve ser ressaltado que uma anamnese acurada pode ser de grande auxílio para o diagnóstico, principalmente em pacientes com distúrbios hemorrágicos congênitos e naqueles em que há histórico de exposição a agentes tóxicos.

Não são raras as vezes em que um paciente é submetido a um tratamento com base somente na apresentação clínica da diátese hemorrágica, e esta conduta muitas vezes obtém sucesso nos primeiros momentos. No entanto, após a suspensão do tratamento, o paciente pode voltar a apresentar os mesmos sinais, revelando que a terapia adotada serviu simplesmente como suporte. Somente com uma avaliação laboratorial de qualidade o clínico veterinário poderá alcançar um diagnóstico definitivo, e a partir daí planejar uma terapia específica para o paciente.

Um outro fato importante é o acesso e o conhecimento da medicina transfusional. Esta ferramenta é praticamente a base para o tratamento dos distúrbios hemorrágicos, principalmente para as doenças congênitas. A medicina transfusional, além de fornecer suporte para as doenças da hemostasia, em muitos casos fornece a terapia específica para a doença, como por exemplo nas deficiências de fatores de coagulação e na doença de von Willebrand. Porém, as informações a respeito das doenças hemorrágicas, dos meios diagnósticos e das terapias específicas ainda encontram-se pouco difundidas na clínica veterinária, e muitas vezes só estão disponíveis nas instituições universitárias. A divulgação da informação e a busca particular pelo próprio clínico de cães e gatos são condutas muito importantes para alcançar um adequado atendimento a estes pacientes.

## REFERÊNCIAS

- BAKER, D. C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p.170-187.
- BARRAVIEIRA, B. **Venenos: aspectos clínicos e terapêuticos dos acidentes por animais peçonhentos**. Rio de Janeiro: Publicações Biomédicas, 1999.
- BARRAVIEIRA, B.; PEREIRA, P.C.M. Acidentes por serpentes do gênero *Bothrops*. In: BARRAVIEIRA, B. **Venenos animais: uma visão integrada**. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 1994.
- BATEMAN, S. W.; MATHEWS, K. A.; ABRAMS-OGG, A. C. G.; LUMSDEN, J. H.; JOHNSTONE, I. B.; HILLERS, T. K. Evaluation of point-of-care tests for diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs admitted to an intensive care unit. **Journal of the American Veterinary Association**, v. 15, n. 215, p. 805-810, Set. 1999.
- BENN, M.; GENTRY, P.A.; JOHNSTONE, I. B. Classic hemophilia (hemophilia A) in a family of Collies. **Canadian Veterinary Journal**, v. 19, n. 8, p. 221-225, Aug. 1978.
- BOUDREAUX, M. K., CRAGER, C., DILLON, A. R., STANZ, K., TOIVIO-KINNUCAN, M. Identification of an intrinsic platelet function defect in Spitz dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 8, n. 2, p. 93-98, Mar. 1994.
- BROOKS, Marjory B.; BARNAS, Jenifer L.; FREMONT, Jacqueline; RAY, Jharna. Conseggregation of a factor VIII microsatellite marker with mild hemophilia A in Golden Retriever dogs. **J. Vet. Intern. Med.**, v. 19, n. 2, p. 205-210, Mar. 2005.
- DALLEGRAVE, E., SEBBEN, V. C. Toxicologia clínica: aspectos teórico-práticos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. D. **Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**. Ames: Iowa University Press, 2001.

DODDS, J. Inherited coagulation disorders in the dog. **In Practice**, v. 5, n. 2, p. 54-58, Mar. 1983.

EVANS, J. P.; BRINKHOUS, K. M.; BRAYER, G. D.; REISNER, H. M.; HIGH, K. A. Canine hemophilia B resulting from a point mutation with unusual consequences. **Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America**, v. 68, n. 24, p. 10095-10099, Dez. 1989.

ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária – doenças do cão e do gato**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

FALLAUX, F. J.; HOEBEN, R. C.; BRIËT, E. State and prospects of gene therapy for the homophilias. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 74, n. 1, p. 266-273, Jul. 1995.

FELDMAN, D. G.; BROOKS, M. B.; DODDS, W. J. Hemophilia B (factor IX deficiency) in a family of German shepherd dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 206, n. 12, p. 1901-1905, Jun. 1995.

GENTRY, P.A.; JOHNSTONE, I. B.; SANFORD, S.E. Diagnosis of classic hemophilia in a Standard Poodle. **Canadian Veterinary Journal**, v. 18, n. 3, p. 79-81, Mar. 1977.

GILES, A. R.; TINLIN, S.; GREENWOOD, R. A canine model of hemophilic (factor VIII:C deficiency) bleeding. **Blood**, v. 60, n. 3, p. 727-730, Set. 1982.

GRUNERT, E., GRUNERT, D. Observaciones de lesiones por mordedura, de serpientes “*Bothrops*” em los bovinos y caballos em Rio Grande do Sul/Brasil. **Not. Méd. Vet.**, n. 3, p. 213-217, Nov. 1969.

HAAD, J.S. Accidentes humanos por las serpientes de los gêneros *Bothrops* y *Lachesis*. **Mem. Inst. Butantan**, n. 45, p. 403-423, Ago. 1981.

JOHNSTONE, I. B. Bleeding disorders in dogs 1. Inherited disorders. **In Practice**, v. 24, n. 1, p. 2-10, jan. 2002.

JOHNSTONE, I. B.; NORRIS, A.M. A moderately severe expression of classical hemophilia in a family of German Shepherd dogs. **Canadian Veterinary Journal**, v. 25, n. 5 p. 191-194, Mai. 1984.

KAMIGUTI, A.S., HAY, C.R.M., THEAKSTON, R.D.G., ZUZEL, M. Review Article. Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. **Toxicon**, v. 34, n. 6, p. 327-642, Jun. 1996.

KAY, M. A.; LANDEN, C. N.; ROTHENBERG, S. R.; TAYLOR, L. A.; LELAND, F.; WIEHLE, S.; FANG, B.; BELLINGER, D.; FINEGOLD, M.; THOMPSON, A. R. In vivo hepatic gene therapy: complete albeit transient correction of factor IX deficiency in hemophilia B dogs. **PNAS**, v. 91, n. 6, p. 2353-2357, Mar. 1994.

LACERDA, Luciana A. Transfusão sanguínea em veterinária. In: GONZÁLEZ, Félix H. D.; SILVA, Sérgio C. **Patologia clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008, cap. 3, p. 57-70.

LITTLEWOOD, J. D.; BARROWCLIFFE, T. W. The development and characterization of antibodies to human factor VIII in haemophilic dogs. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 57, n. 3, p. 314-321, Jun. 1987.

LOMONTE, B., GUTIÉRREZ, J.M., FURTADO, M.F. Isolation of basic myotoxins from *Bothrops moojeni* and *Bothrops atrox* snake venoms. **Toxicon**, v. 28, n. 10, p. Out. 1137-1146, 1990.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de patologia clínica veterinária**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. p. 77-99.

MADDISON J. F., WATSON, A. D. J., EADE, I. G., EXNER, T. Vitamin K-dependent multifactor coagulopathy in Devon Rex cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 1, n. 197, p. 1495-1497, Dez. 1990.

MANSELL, P.. Hemophilia A and B. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Ames: Blackwell Publishing Professional, 2000. p. 1026-1029.

MANUCCI, P. M. Desmopressin: a nontransfusional form of treatment for congenital and acquired bleeding disorders. **Blood**, v. 72, n. 5, 1449-1455, Nov. 1988.

MARGARITIS, P.; ROY, E.; ALJAMALI, M. N.; DOWNEY, H. D.; GIGER, U.; ZHOU, S.; MERRICKS, E.; DILLOW, A.; EZBAN, M.; MAUSER, A. E.; WHITLARK, J.; WHITNEY, K. M.; LOTHROP, C. D. A deletion mutaton causes hamophilia B in Lhasa Apso dogs. **Blood**, v. 88, n. 9, p. 3451-3455, Nov. 1996.

MARUYAMA, M., KAMIGUTI, A.S., CARDOSO, J.L.C. Studies on blood coagulation and fibrinolysis in patients bitten by *Bothrops jararaca* (Jararaca). **Thrombosis and Haemostasis**, v. 63, n. 3, p. 449-453, Jun. 1990.

NAKATA, M.; SAKAI, M.; SAKAI, T. Hemophilia B in a crossbred Maltese dog. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n. 11, p. 1223-1224, Nov. 2006.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

NICHOLS, T. C.; HIGH, K. A.; Successfum treatment of canine hemophilia by continuous expression of canine FVIIa. **Blood**, v. 113, n. 16, p. 3682-3689, Abr. 2009.

PEREZ, O.A., KOSCINCZUK, P., FLINTA, S. M., MAIDANA, H.R., NEGRETTE, M.S. *Bothrops alternatus*: envenomins in youg dogs. **J. Venom. Anim. Toxins**, v. 3, n.1, p. 43-47, Mai. 1997.

RADOSTITS, O.M., BLOOD, D.C., GAY, C.C. **Veterinary Medicine**. London: England Ballière Tindall, 1994.

RAPOSO, J.B.; MÉNDEZ. M.C.; BAIALARDI, C.E.G.; RAFFI, M.B. Acidente ofídico em eqüino no sul do Brasil – Relato de caso. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 7/8, n. 1, 51-57, Jul. 2000.

SALMAN, S. Uremic Bleeding: pathophysiology, diagnosis, and management. **Hospital Physician**, v. 76, n. 5, p. 54-50, Mai. 2001.

SANCHEZ, E.F., FREITAS, T.V., FERREIRA-ALVES, D.L. Biological activities of venoms from south american snakes. **Toxicon**, v. 30, n. 1, 95-103, Jan. 1992.

SELISTRE, H.S., QUEIROZ, L.S., CUNHA, A.B. Isolation and characterization of hemorrhagic, myonecrotic and edema-including toxins from *Bothrops insularis* (Jararaca Ilhoa) snake venom. **Toxicon**, v. 28,n. 3, 261-273, Jan. 1990.

SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y. **Coagulação – visão laboratorial da hemostasia primária e secundária**. Rio de Janeiro: Reinventer, 2006.

SOERENSEN, B. **Animais Peçonhentos**. São Paulo: Atheneu, 1990.

VERLANDER, J. W.; GORMAN, N. T.; DODDS, W. J. Factor IX deficiency (hemophilia B) in a litter of Labrador retrievers. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 185, n. 1, p. 83-84, Jul. 1984.