

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES NO FENÔMENO DA COAGULAÇÃO NA
VIGÊNCIA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO EM CÃES**

**Amanda Gullo Pinarel
Médica Veterinária**

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES NO FENÔMENO DA COAGULAÇÃO NA
VIGÊNCIA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO EM CÃES**

Amanda Gullo Pinarel

Orientadora: Prof^a Dr^a Márcia Ferreira da Rosa Sobreira

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Annelise Carla Camplesi dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Clínica Médica.

2015

P646p Pinarel, Amanda Gullo
Alterações no fenômeno da coagulação na vigência do mastocitoma cutâneo em cães / Amanda Gullo Pinarel. -- Jaboticabal, 2015
xvi, 45 p. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015
Orientador: Márcia Ferreira da Rosa Sobreira
Coorientadora: Annelise Carla Camplesi dos Santos
Banca examinadora: Rosemeire de Oliveira Vasconcelos, Érika Maria Terra
Bibliografia

1.Hemostasia. 2. Heparina. 3. Mastócitos. 4. Neoplasia. 5. TTPA. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-072:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

AMANDA GULLO PINAREL – nascida em 09 de maio de 1986, em Limeira-SP. Filha de Luiz Alberto Pinarel e Cláudia Naidhig Gullo Pinarel, concluiu o Ensino Fundamental e Médio no Colégio Anglo, em Limeira-SP. Médica Veterinária formada pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV - UNESP, Jaboticabal-SP, em dezembro de 2009, sob orientação do Prof. Dr. Áureo Evangelista Santana. Em agosto de 2013 iniciou o curso de Mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV/Unesp (Área de Clínica Médica), sob orientação da Profa. Dra. Márcia Ferreira da Rosa Sobreira.

*“Tu escolhes, recolhes, eleges,
atrais, buscas, expulsas, modificas tudo
aquilo que te rodeia a existência. Teus pensamentos e
vontades são a chave
de teus atos e atitudes. São as fontes de atração e repulsão na
jornada de tua vivência”.*

*“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no
livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa
conta”.*

(Chico Xavier)

Aos meus amados pais, Luiz Alberto e Cláudia, e ao meu amor, Rodrigo, pelo carinho, apoio, compreensão e incentivo constantes durante a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela oportunidade de viver. Minha razão de tudo. O que alcanço em vida só é possível graças a Sua bondade e amor infinitos.

Ao meu marido, Rodrigo, pela compreensão, dedicação, amor imenso, apoio, incentivo e tantas palavras amigas e fundamentais nas nossas lutas do dia a dia. Você sabe em todas as situações como me fazer a pessoa mais feliz deste mundo.

Aos meus pais, infinitamente amados, sem os quais não viveria sem. Obrigada por 'serem vocês'. Não poderia ser filha de mais ninguém. Obrigada pelo amor incondicional, pelos ensinamentos, paciência, apoio e carinho. Amo vocês.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Márcia Ferreira da Rosa Sobreira, pela paciência, instrução, sabedoria e amizade. Obrigada por ser uma professora tão acessível e dedicada.

À minha co-orientadora, Prof^a. Dr^a Annelise Carla Camplesi dos Santos, por toda a ajuda prestada e pela confiança no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Sérgio Ferraud, fundamental para a realização da análise estatística. Obrigada pelas explicações, pela paciência e pela generosidade em ajudar com tanta boa-vontade.

À Prof^a. Dr^a. Sabryna Gouveia Calazans, ao Prof. Dr. Andriago Barboza Denardi e sua orientada, M.V. Msc. Marília Gabriele P. Albuquerque Ferreira, que

nos auxiliaram na coleta de dados para o experimento. Sua colaboração foi fundamental para a execução deste trabalho.

Aos meus irmãos, Danielle e Gustavo, pela amizade. Aos meus avôs, tios, primos e amigos. Em especial, agradeço a Nara Bernardi, Daniela J. de Queiroz e Edmilson Daneze, pela ajuda acadêmica nas horas mais importantes destes dois anos de mestrado.

Às instituições Centro Universitário Moura Lacerda, Universidade de Franca (Unifran), Centro Avançado de Veterinária (CAVET) e Centro Médico Veterinário Endovet, pelo apoio na realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida.

SUMÁRIO

	Página
Certificado da Comissão de Ética no uso de animais	xi
Resumo	xii
Abstract	xiii
Lista de Figuras	xiv
Lista de Tabelas	xv
Lista de Quadros	xvi
CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS	01
1.1. INTRODUÇÃO	01
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	02
1.2.1. Mastocitoma Cutâneo.....	02
1.2.1.1. Epidemiologia	02
1.2.1.2. Sinais Clínicos.....	03
1.2.1.3. Diagnóstico.....	06
1.2.2. Hemostasia em Cães	07
1.2.2.1. Hemostasia Primária	08
1.2.2.2. Hemostasia Secundária	10
1.2.2.2.1. Fator Tecidual	12
1.2.2.2.2. Fatores de Ativação por Contato.....	13
1.2.2.2.3. Funcionamento da Cascata da Coagulação.....	14
1.2.2.3. Hemostasia Terciária	16
1.2.2.4. Papel da heparina na cascata da coagulação.....	20
1.2.3. Avaliação da Hemostasia em cães com Neoplasia	21
1.3. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 2. AUMENTO DO TTPA EM CÃES COM MASTOCITOMA CUTÂNEO	29
2.1. Introdução	31
2.2. Material e Métodos	33
2.3. Resultados e Discussão	34

2.4. Conclusões	42
2.5. Referências	43



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 22073/14 do trabalho de pesquisa intitulado **"Alterações no fenômeno da coagulação na vigência do mastocitoma cutâneo em cães"**, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Márcia Ferreira da Rosa Sobreira está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 01 de dezembro de 2014.

Jaboticabal, 01 de dezembro de 2014.


Prof.^a Dr.^a Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

“ALTERAÇÕES NO FENÔMENO DA COAGULAÇÃO NA VIGÊNCIA DO MASTOCITOMA CUTÂNEO EM CÃES”

RESUMO - O mastocitoma caracteriza-se por transformações neoplásicas de mastócitos e consiste em uma das neoplasias malignas que acometem com maior frequência a espécie canina. Os sinais clínicos dos mastocitomas decorrem da liberação dos grânulos citoplasmáticos dos mastócitos, que quando sensibilizados, culminam na produção e liberação de vários mediadores presentes nestes grânulos, tais como histamina, heparina, proteases e outros. No mastócito neoplásico, estas substâncias podem estar aumentadas 25 a 50 vezes em relação a um mastócito normal. A heparina forma um complexo ternário com a antitrombina III e inibe a formação de trombina, que pode levar a um aumento no tempo de coagulação. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a hemostasia primária e secundária dos animais com mastocitoma e correlacionar estes resultados com o grau histopatológico do tumor, utilizando a classificação de Kiupel e colaboradores, mais utilizada atualmente. Para isso, foram avaliados 50 cães, dentre eles 20 cães hígidos (grupo controle - GC) e 30 cães com mastocitoma cutâneo (grupo doente - GD) – estes diagnosticados por meio de avaliação citológica e histopatológica do tecido acometido. Entre os cães do GD, consideramos dois subgrupos da classificação de Kiupel et al.: grupo SK1 (12 animais com mastocitoma de alto grau) e grupo SK2 (18 animais com mastocitoma de baixo grau). Para avaliação da hemostasia primária, foram feitas contagens de plaquetas em contador automático imediatamente após a obtenção da amostra de sangue. Para avaliação da hemostasia secundária, a partir do sangue venoso coletado, foram determinados os valores de fibrinogênio, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) em coagulômetro. Com base no grau de malignidade do tumor, comparamos os resultados dos seus respectivos painéis de coagulação e submetemos suas correspondências à análise multivariada. Verificou-se que, dentre os parâmetros avaliados, os valores de TTPA foram significativamente maiores nos animais acometidos, principalmente nos classificados em mastocitomas de alto grau. Os valores de TP e as plaquetas mostraram-se pouco alterados nos animais do GD, porém; quando ocorreram, tais modificações foram fortemente associadas aos mastocitomas de alto grau. Concluiu-se que o mastocitoma parece pouco alterar a hemostasia primária; porém, os valores dos tempos de coagulação que compõem a hemostasia secundária foram alterados em pelo menos 70% dos cães do GD.

Palavras-chave: hemostasia, heparina, mastócitos, neoplasia, TTPA

“HEMOSTATIC CHANGES IN DOGS WITH MAST CELL TUMORS”

ABSTRACT - Mast cell tumor is characterized by neoplastic transformation of mast cells. This tumor is one of the malignancies that most often affect dogs. The clinical signs result from the release of granules contained in the cytoplasm of mast cells. When these granules are sensitized, it causes the production and release of several mediators from these beads (such as histamine, heparin, proteases and others). In neoplastic mast cells, these substances may be increased 25 to 50 times compared to a typical mast cell. Heparin forms a ternary complex with antithrombin III and inhibits the formation of thrombin, which may lead to an increase in clotting time. In this context, the aim of this study was to evaluate primary and secondary hemostasis of animals with mast cell tumor and correlate these findings with the tumor histological grade, using the Kiupel et al. (2011) classification for mast cell tumors. For this, were used 50 dogs, including 20 healthy animals (Control Group - GC) and 30 dogs with cutaneous mast cell tumors (Disease Group - GD) - those diagnosed by cytological and histopathological evaluation of the affected tissue. Among the GD dogs, was considered two subgroups of Kiupel classification: SK1 group, composed of 12 animals with high-grade mast cell tumor; SK2 group, consisting of 18 animals with low-grade mast cell tumor. To evaluate primary hemostasis, platelets were counted with an automatic counter immediately after collection of the blood sample. To evaluate secondary hemostasis, collected venous blood was used to determined fibrinogen values, prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) in coagulometer. Based on tumor grade, it was compared to the results of their respective clotting panels and then its correspondences were submitted to multivariate analysis. It was found that among the evaluated parameters, the APTT values were significantly higher in affected animals, particularly in high-grade mast cell tumors. TP values and platelets proved to be less altered in the animals of GD, however, such changes have been strongly associated with high-grade mast cell tumors. We concluded that the mast cell tumor appears to slightly alter primary hemostasis; however, the values of the coagulation time that compose the secondary hemostasis has been altered in at least 70% of the dogs from GD.

Keywords: APTT, hemostasis, heparin, neoplasia

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Nódulo ulcerado correspondente a um mastocitoma de grau II em cão da raça Boxer. (Fonte: argos.portalveterinaria.com/noticia3528)..... 04
- Figura 2.** Mastocitoma de grau II em membro pélvico esquerdo de um cão, com aspecto macroscópico semelhante ao de um lipoma (Fonte: argos.portalveterinaria.com/noticia/3528)..... 05
- Figura 3.** Esquema demonstrando o funcionamento da cascata de coagulação (Fonte: modificado de JAIN, 1993)..... 15
- Figura 4.** Pontos de ação dos inibidores fisiológicos de coagulação na cascata de coagulação (Fonte: modificado de JAIN, 1993; adaptado de SILVA & HASHIMOTO, 2006)..... 19

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla..... 36

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Propriedades e especificações dos fatores de coagulação. Modificado de THRALL, 2011.....	11
---	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Tabela de Burt. Número de animais nas categorias avaliadas, interligando os parâmetros hemostáticos e as classificações de mastocitomas.....	40
---	----

LISTA DE QUADROS

Página

CAPÍTULO 2

Quadro 1. Resíduos padronizados e a correspondência entre os grupos controle e doente. As células em vermelho indicam valores fortemente significativos e as células em azul indicam valores fracamente significativos.....	35
Quadro 2. Inércia das categorias avaliadas de acordo com a Dimensão 1 e a Dimensão 2.....	37

CAPÍTULO I – Considerações Gerais

1.1. INTRODUÇÃO

O tumor de mastócitos ou mastocitoma caracteriza-se pela ocorrência de transformações morfológicas, com proliferação anormal de mastócitos. O mastocitoma consiste em uma das neoplasias malignas cutâneas que com maior frequência acometem a espécie canina e os animais domésticos de modo geral.

Os sinais clínicos dos mastocitomas decorrem da liberação dos constituintes granulares contidos no citoplasma dos mastócitos, que, quando sensibilizados por fatores externos, liberam vários mediadores presentes nestes grânulos, tais como histamina, heparina e proteases, entre outros. Os mastócitos neoplásicos podem conter cerca de 25 a 50 vezes mais destas substâncias em relação a um mastócito típico. Tais mediadores liberados induzem inúmeros eventos, incluindo o aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e anticoagulação.

A heparina apresenta efeitos inibitórios na ativação da trombina, e sobre o fator X, que ocupa uma posição fundamental na cascata de coagulação. O fator X da via comum é importante tanto para o sistema intrínseco como para o extrínseco da coagulação. Assim, a liberação maciça da heparina pode causar graves efeitos sistêmicos como, por exemplo, as coagulopatias.

Desordens hematológicas são frequentes em pequenos animais com tumores e podem ser resultado direto dos efeitos do crescimento tumoral ou da síndrome paraneoplásica. Alterações hemostáticas subclínicas em cães com câncer parecem ser comuns; porém, avaliações laboratoriais para identificação de alterações na hemostasia primária ou secundária não são realizadas rotineiramente em pacientes portadores de neoplasias.

Neste contexto, os objetivos do presente estudo foram: avaliar laboratorialmente as hemostasias primária e secundária em animais com tumor de mastócitos e correlacionar tais resultados com o grau histopatológico do tumor, utilizando a classificação de Kiupel (2011), mais utilizada atualmente.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1. Mastocitoma Cutâneo

Estudos realizados no Brasil demonstram que as neoplasias tem sido a segunda maior causa de mortes em animais de companhia (BENTUBO et al., 2007) e a principal causa em animais idosos (FIGHERA et al., 2008). Essa afirmação é atribuída ao aumento da expectativa de vida desses animais, somada a melhorias na profilaxia de doenças infecciosas e parasitárias, uma nutrição balanceada, terapêutica e prática médica mais atuais (WITHROW, 2007). Ainda, em cães com o sistema imune deprimido, como ocorre nos animais mais idosos, as células tumorais podem escapar à vigilância protetora desse sistema e permitir o desenvolvimento do processo neoplásico (MODIANO & BREEN, 2007).

Os mastocitomas cutâneos surgem dos mastócitos teciduais localizados na derme ou subcutâneo (BLACKWOOD et al., 2012) e são as mais frequentes lesões cutâneas nos caninos e nos animais domésticos de modo geral. A prevalência deste tipo de tumor vem crescendo significativamente nos últimos anos, tornando o mastocitoma uma das principais causas de mortalidade entre os cães (WITHROW, 2007).

1.2.1.1. Epidemiologia

Os mastocitomas são responsáveis por 7 a 21% dos neoplasmas cutâneos da espécie canina, sendo geralmente tumores solitários, embora haja um número significativo de cães com presença de múltiplos tumores. Os mastocitomas normalmente acometem cães mais velhos (idade média de nove anos), mas podem ocorrer em cães com até menos de um ano de idade. Não há relatos de predileção sexual; porém, quanto à raça, cães Boxer, Retrievers, Pug e Pit Bull apresentam um risco maior de desenvolverem esta neoplasia, sendo que, em Boxers e Pugs é comum que os mastocitomas sejam histologicamente classificados em graus baixo ou intermediário, levando a um prognóstico mais favorável. Por outro lado, Shar-Peis, particularmente indivíduos jovens, são predispostos a desenvolverem

mastocitomas pouco diferenciados e biologicamente agressivos (BLACKWOOD et al., 2012).

A etiologia dos mastocitomas em cães é desconhecida. Muitos suspeitam de uma etiologia viral devido ao sucesso da realização de um transplante de células e extratos celulares de mastocitoma a cães de laboratórios suscetíveis (extremamente jovens ou imunodeprimidos). Evidências recentes mostram que uma porcentagem significativa de cães com mastocitoma de alto grau apresenta mutações genéticas no c-kit (receptor de células tronco), o que pode ser responsável pela gênese e progressão do mastocitoma nessa espécie. Porém, nem todos os cães com mastocitoma apresentam mutações no c-kit, o que sugere que ele não é o único mecanismo para seu desenvolvimento e progressão (BERGMAN, 2008). Além da expressão do c-kit, estudos recentes demonstram anormalidades na via supressora de tumores p53 (HAYASHI & INOUE, 2004; TURIN et al., 2006; WEBSTER et al., 2007).

1.2.1.2. Sinais Clínicos

Os mastocitomas podem se desenvolver em qualquer lugar do corpo, mas normalmente aparecem sob a forma cutânea (dermal) ou subcutânea. A aparência externa dos mastocitomas é, até certo ponto, correlacionada com o seu grau histológico; sendo que um tumor com características externas de malignidade é quase sempre de desenvolvimento agressivo. Porém, um tumor que parece inofensivo não deve ser considerado benigno. Sinais clínicos que sugerem um comportamento agressivo incluem: crescimento rápido, irritação ou inflamação local, infiltração local ou pobre demarcação dos tecidos adjacentes, ulceração, presença de nódulos satélites e sinais paraneoplásicos (BLACKWOOD et al., 2012).

Raramente, o mastocitoma pode se apresentar na forma visceral disseminada e caracterizar-se, principalmente, por massas neoplásicas no baço, fígado, pulmão e linfonodos (POLLACK et al., 1991; TAKAHASHI et al., 2000). Os tumores de mastócitos ocorrem, com maior frequência, na parte posterior do corpo do animal, sendo flanco e escroto os locais mais comuns (JONES et al., 1997), mas podem ser vistos com grande frequência em junções mucocutâneas (vulva, prepúcio,

conjuntiva, cavidade oral), em focinho, região perioral (figura 1) ou oral, e tecido subcutâneo no geral, apresentando diferentes prognósticos e tempos de sobrevida, conforme a sua localização (GARRETT, 2014).



Figura 1. Nódulo ulcerado correspondente a um mastocitoma de grau II em cão da raça Boxer (Fonte: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/3528/>)

A forma da doença originada no subcutâneo consiste de uma massa de consistência mole, pouco definida, que geralmente possui pelos, raramente é ulcerada ou avermelhada e pode ser confundida com um lipoma (figura 2). A metástase dos mastocitomas ocorre por disseminação linfática ou hematógena e pode atingir linfonodos regionais, baço, fígado, rins, vísceras e medula óssea, sendo incomum a metástase pulmonar (ROCHA et al., 2004).



Figura 2. Mastocitoma de grau II em membro pélvico esquerdo de um cão, com aspecto macroscópico semelhante ao de um lipoma (Fonte: <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/3528/>)

Do ponto de vista clínico, as três conseqüências mais importantes do mastocitoma são: o surgimento de úlceras gastroduodenais, coagulopatias e o retardo nos processos de cicatrização (LEMARIE et al., 1995). Os sinais clínicos dos mastocitomas decorrem da liberação de grânulos de histamina, heparina e outras aminas vasoativas (LONDON; SEGUIN, 2003). Estes mediadores da inflamação podem desencadear síndromes paraneoplásicas associadas aos mastocitomas. Localmente, a liberação de histamina pode estar associada com edema e eritema no tumor e tecidos adjacentes, e pode causar ulceração gastroduodenal, levando a anorexia, êmese, melena, anemia e, em alguns casos, perfuração intestinal e peritonite (DOBSON & SCASE, 2007). A ocorrência dos efeitos gastrointestinais da liberação dos grânulos de histamina foi estimada em mais de 80% dos cães com mastocitoma (HOWARD et al., 1969). Reações anafiláticas agudas causadas pela liberação repentina e massiva de histamina pelas células neoplásicas são incomuns, mas episódios de colapso podem ser vistos em cães com lesões extensas (DOBSON & SCASE, 2007). Segundo Kenyon et al. (1983), a histamina se liga aos receptores H1 e H2 dos macrófagos, levando à liberação do fator supressor fibroblástico, o qual diminui a fibroplasia e, conseqüentemente, a cicatrização das feridas, sendo que este retardo após a excisão de mastocitomas é de ocorrência

comum e tem sido atribuído aos efeitos locais de enzimas proteolíticas e aminas vasoativas liberadas pelos mastócitos (TAMS & MACY, 1981).

A heparina, liberada dos grânulos mastocíticos, é uma enzima com ação anticoagulante, e constitui a principal causa das coagulopatias em cães com mastocitoma (CHILDRESS et al., 2012). Alterações na coagulação são frequentemente associadas aos mastocitomas. Lemarie et al. (1995) sugeriram que coagulopatias sistêmicas com alterações nos fatores de coagulação em decorrência de mastocitoma são incomuns, exceto na ocorrência de uma coagulação intravascular disseminada associada ao desenvolvimento do tumor. É importante salientar que em algumas situações, estes sinais descritos como paraneoplásicos podem chegar a provocar um quadro sistêmico mais grave e urgente que o próprio tumor (MERLO, 2000).

1.2.1.3. Diagnóstico

O diagnóstico geralmente é estabelecido através de exame citológico ou histopatológico, em conjunto com sinais clínicos (JOHNSON et al., 2002, RECH et al., 2004). A citologia aspirativa por agulha fina é vantajosa, pois é um método menos invasivo, com poucos riscos para o paciente, reduzida injúria ao processo neoplásico e auxilia de forma importante no diagnóstico desta neoplasia (GOLDSCHMIDT & HENDRICK, 2002, LAVALLE et al, 2004). Geralmente há relação da citologia com a histopatologia, porém nos mastocitomas indiferenciados esta relação nem sempre é possível de ser realizada (LAVALLE et al, 2004). A citologia aspirativa pode sugerir o grau de malignidade, porém a classificação quanto à malignidade só pode ser realizada no exame histopatológico (SUEIRO et al., 2002).

O grau histológico dos mastocitomas é determinado após a biópsia incisional ou excisional do tumor. De acordo com Patnaik et al. (1984), o tumor pode ser classificado em três graus, sendo que a determinação se dá pelas características das células neoplásicas, número de figuras de mitose e invasão do tumor nos tecidos subjacentes. O grau I caracteriza um tumor bem diferenciado, sendo as células neoplásicas muito semelhantes a células de mastócitos normais, o grau II é

constituído por células intermediariamente diferenciadas, enquanto o grau III é caracterizado por células pouco diferenciadas, com grânulos pouco visíveis (PATNAIK et al., 1984).

Recentemente, Kiupel et al. (2011) propuseram um novo sistema de classificação dos mastocitomas, que parece trazer menos discordância entre os patologistas, e se correlaciona com o tempo de sobrevida. Esta nova classificação divide estes tumores em apenas dois graus de malignidade (alto grau e baixo grau), e exclui o grau intermediário da classificação histopatológica. Assim, os tumores de alto grau de malignidade estimam a sobrevida do paciente em aproximadamente 3,65 meses, enquanto que os tumores avaliados em baixo grau de malignidade estimam uma sobrevida média de 23 meses. Os critérios para determinação dos mastocitomas de alto grau são a presença de sete ou mais mitoses para cada 10 campos de grande aumento (CGA); três ou mais células multinucleadas/ para cada 10 CGA; 3 ou mais núcleos bizarros para cada 10 CGA, cariomegalia (10% dos núcleos em pelo menos dois campos). A lesão deve ser avaliada nos campos de maior atipia e índice mitótico (KIUPEL et al., 2011).

1.2.2. Hemostasia em Cães

O sistema cardiovascular distribui o sangue para os tecidos de todo o corpo e está predisposto, diariamente, a diversos tipos de agressão. Porém, os indivíduos sem anormalidades têm um mecanismo bem controlado que impede a perda sanguínea, mantém o fluxo do sangue e permite o reparo dos vasos lesionados, denominado hemostasia (BAKER, 2007).

Os elementos que constituem o sistema hemostático incluem as plaquetas, os vasos sanguíneos, as proteínas da coagulação, os anticoagulantes naturais do organismo e o sistema de fibrinólise (FRANCO, 2001).

O processo de hemostasia pode ser dividido, de modo didático, em três partes: hemostasia primária, hemostasia secundária e hemostasia terciária (BAKER, 2007).

1.2.2.1. Hemostasia primária

Na hemostasia primária, logo após a lesão vascular, ocorre vasoconstrição reflexa local, o que reduz instantaneamente o fluxo de sangue no sítio acometido (DAY et al., 2001). Depois ocorre a interação entre as plaquetas e o endotélio vascular lesionado, formando o tampão plaquetário primário. Este tampão inicialmente é frouxo, porém, geralmente significativo para o controle da hemorragia se a lesão vascular for pequena. Nos capilares e vênulas, o tampão plaquetário primário 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 um aglomerado de fibrina insolúvel, formada pelo processo da hemostasia secundária (DAY et al., 2001).

A parede vascular é a primeira barreira física contra uma hemorragia. A rede vascular compõe-se da micro e da macrocirculação. A microcirculação compreende os vasos menores: os capilares, as arteríolas e as vênulas, enquanto a macrocirculação é formada pelos grandes vasos: artérias e veias. Os capilares são vasos extremamente finos, cuja parede é formada por uma camada única de células endoteliais apoiadas numa membrana basal, e é neles que ocorrem as trocas metabólicas com os tecidos adjacentes. 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 & 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 são expressas para impedir ou reverter a agregação plaquetária, inibir a ativação dos fatores de coagulação e a formação de fibrina, e com isto manter a fluidez do sangue (SILVA & HASHIMOTO, 2006).

A função primária das plaquetas é a manutenção da hemostasia por meio da interação com o endotélio, mantendo a integridade vascular. Adesão, agregação e secreção plaquetárias são eventos que podem ocorrer simultaneamente ou independentemente, conforme as condições de estímulos e circunstâncias (LOPES et al., 2007). Para manter a hemostasia, os capilares necessitam, além da vasoconstrição local, da presença e funcionamento normal das plaquetas, responsáveis pela hemostasia primária, ou seja, a formação de um tampão ou “plug” provisório, que procura evitar uma hemorragia maior, enquanto a fibrina se forma. O primeiro passo na formação do “plug” é dado pela adesão das plaquetas à parede vascular, que se faz principalmente sobre as fibrilas de colágeno (THRALL et al., 2007).

Toda vez que há lesão em um vaso sanguíneo, as plaquetas são aderidas ao local injuriado. A lesão vascular pode ocorrer por alterações do fluxo sanguíneo, aumento da turbulência, traumatismo e processo inflamatório. A lesão expõe ao sangue periférico a matriz subendotelial e as plaquetas se ligam ao colágeno (SILVA & HASHIMOTO, 2006). Quando há exposição do tecido subendotelial, ocorre a ligação das plaquetas ao colágeno tecidual da membrana basal (adesão plaquetária) por intermédio de um receptor de superfície (glicoproteína Ib), que se liga ao Fator de von Willebrand, e este se liga ao colágeno. Esta ligação provoca alterações morfológicas na plaqueta e induz a liberação de substâncias vasoativas e agregantes (adrenalina, ADP, serotonina, tromboxane A₂, entre outras). (TAKAHIRA, 2003).

Após a adesão, a liberação de substâncias providas das plaquetas permite a ligação entre elas por meio da interação do fibrinogênio com os receptores de superfície (IIb e IIIa), induzida pelo ADP (THRALL et al., 2007).

As plaquetas também são importantes na hemostasia por fornecerem um fosfolípídeo plaquetário que atua como receptor de fatores de coagulação, 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 tampão hemostático estabilizado, que constitui a fase terminal do evento (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 (ATP), que é transformada em 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 determina a emissão de pseudópodes, a secreção plaquetária e a retração do coágulo (SILVA & HASHIMOTO, 2006). A agregação também é induzida pela reação de liberação, que esvazia o conteúdo de grânulos plaquetários, transferindo-os ao plasma. Os fatores de coagulação armazenados nos grânulos asseguram a formação de fibrina, necessária para a estabilização do tampão de plaquetas (THRALL et al., 2007).

1.2.2.2 – Hemostasia secundária

A hemostasia secundária consiste na coagulação sanguínea. O termo coagulação sanguínea, muitas vezes usado de forma ampla, como se representasse toda a hemostasia, na verdade refere-se apenas aos fatores plasmáticos de coagulação (SILVA & HASHIMOTO, 2006).

O objetivo dessa coagulação é a geração de fibrina insolúvel, que forma ligações cruzadas, resultando em uma malha estabilizadora do tampão plaquetário formado na hemostasia primária. A formação de fibrina é o produto de uma cascata de reações enzimáticas, incluindo fatores de coagulação, iniciada pelo trauma tissular e a liberação do fator tecidual (DAY et al., 2001).

Os fatores de coagulação são didaticamente classificados em algarismos romanos, de I a XIII (Tabela 1). Sua concentração no plasma é muito baixa (μmL) e a maioria é representada por proteases inativas. Tais fatores são ativados, principalmente, pela exposição à tromboplastina tecidual (fator tecidual ou fator III), expressa na superfície de células endoteliais ou fibroblastos extravasculares. A relação dos fatores envolvidos na cascata de coagulação está presente na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades e especificações dos fatores de coagulação.

Fator	Nome comum	Local de síntese	Meia-vida plasmática	Dependência à vitamina K	Quadro clínico
I	Fibrinogênio	Fígado	1,5-6,3 dias	Não	Grave
II	Protrombina	Fígado, macrófago	2,1-4,4 dias	Sim	Discreto
III	Tromboplastina tecidual	Lipoproteínas (Endotélio, monócitos e macrófagos)		Não	
IV	Cálcio			Não	
V	Pro-acelerina	Fígado, macrófagos	15-24h	Não	Variável, geralmente discreto
VII	Pro-convertina	Fígado, macrófagos	1-6h	Sim	Discreto
VIII	Fator anti-hemofílico	Fígado	2,9 dias	Não	Variável
IX	Fator Christmas (componente de tromboplastina plasmática)	Fígado	24h	Sim	Geralmente grave
X	Fator Stuart	Fígado, macrófagos	32-48h	Sim	Grave
XI	Antecedente de tromboplastina plasmática	Fígado	30h	Não	Discreto
XII	Fator Hageman	Fígado	48-52h	Não	Nenhum
XIII	Fator estabilizante de fibrina	Fígado	4,5-7 dias	Não	
Precalcreína	Fator Fletcher	Fígado	35h	Não	Nenhum ou discreto
Cininogênio de APM	Fator Fitzgerald	Fígado	6,5 dias	Não	

Fonte: modificado de THRALL et al. (2007)

Após a ativação inicial, os fatores de coagulação são ativados em uma cascata de eventos que exacerbam o estímulo desencadeador. O ponto culminante da ativação dos fatores de coagulação é a conversão de fibrinogênio em fibrina e a formação de um coágulo de fibrina estável junto às plaquetas. A disfunção (ou

ausência) de qualquer fator de coagulação retarda a formação de fibrina (THRALL et al., 2007).

A cascata ou ativação sequencial dos mecanismos de coagulação e o esquema de amplificação da hemostasia tradicionalmente seguem a hipótese de Macfarlane e Davie & Ratnoff, que propuseram a participação de três vias diferentes no desenvolvimento da coagulação: intrínseca, extrínseca e comum. Assim, didaticamente a coagulação é dividida em uma via extrínseca (envolvendo componentes intra e extravasculares) e uma via intrínseca (componentes intravasculares), que convergem no ponto de ativação do fator X (via comum). Na via extrínseca, o fator VII plasmático (na presença do fator tecidual ou tromboplastina) ativa diretamente o fator X. Na via intrínseca, a ativação do fator XII ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície de cargas elétricas negativas (ativação por contato) e requer outros componentes do plasma, como a pré-caliceína e o cininogênio de alto peso molecular (FRANCO, 2001). 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). Os resultados de análises cinéticas recentes de fatores individuais sugerem um esquema no qual a ativação inicial pela tromboplastina tecidual induz à formação de pequena quantidade de trombina, seguida de amplificação pela subsequente ativação de circuitos secundários das vias intrínseca, extrínseca e comum. O importante nessa ativação de circuitos é a ativação da trombina (fator IIa), dos fatores VII, XI e dos fatores de aceleração V e VIII. Isso indica que a contribuição da ativação por contato não é essencial para a ativação dos fatores de coagulação, e que o sistema intrínseco é principalmente um circuito de amplificação que se ativa após a formação de trombina a partir da ação da tromboplastina tecidual (THRALL et al., 2007).

1.2.2.2.1. Fator tecidual (Tromboplastina tecidual ou Fator III)

A tromboplastina tecidual (Fator III) ou fator tecidual (FT), proporciona uma superfície adequadamente carregada para a ligação tanto do cálcio como do fator VIIa para formar um complexo enzimático que ativa o fator X. A atividade do fator VII

pode ser aprimorada pela ação da calicreína, plasmina, fator XIIa, e fator IXa, e também pelo fator Xa. O complexo formado pelo fator tecidual, fator VIIa, e o cálcio pode também ativar o fator IX em fator IXa num processo de coagulação normal (JAIN, 1993). O fator tecidual não está presente normalmente em células em contato direto com o sangue (endotélio e leucócitos), mas é expresso em fibroblastos subjacentes ao endotélio vascular. Também é encontrado em queratinócitos, células epiteliais do trato respiratório e trato gastrointestinal, cérebro, células cardíacas e glomérulos renais. Células endoteliais e monócitos, que normalmente não expressam o FT, podem expressá-lo na vigência de injúria endotelial ou presença de endotoxinas e citocinas no sangue (FRANCO, 2001).

1.2.2.2. 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. 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 fator XIIa é capaz de iniciar a via intrínseca da coagulação pela conversão do fator XI em fator XI ativado. O fator XIIa 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).

1.2.2.2.3. Funcionamento da Cascata da Coagulação

Experimentos conduzidos nas últimas três décadas demonstraram que as vias extrínseca e intrínseca não são independentes e atuam de modo altamente interativo *in vivo* (FRANCO, 2001). Para fins didáticos, demonstra-se o funcionamento individual de cada via. A via intrínseca, que é um processo relativamente lento, começa na circulação com a ativação do fator XII (GASPARD, 2010), mediante associação do fator XII, pré-caliceína e cininogênio de alto peso molecular (CAPM). O fator XIIa ativa o fator XI, que permanece ligado a pré-caliceína e ao CAPM na circulação. Na presença de cálcio, o fator XIa ativa o fator IX. O fator IXa se liga ao fosfolípido, ao cálcio e ao fator VIIIa, complexo que ativa o fator X (GENTRY, 2006).

A via extrínseca, que é um processo muito mais rápido, começa com traumatismo do vaso sanguíneo ou de tecidos circundantes e a liberação do fator tecidual (FT) (GASPARD, 2010), que fica exposto sobre a superfície celular em configuração que permite sua ligação com uma molécula do fator VII circulante. Tal complexo, ligado à membrana, é ativado na presença de cálcio, o qual converte o fator X em sua forma ativa (GENTRY, 2006).

O fator Xa forma um complexo protrombinase com o fator Va, fosfolípido e cálcio que cliva lentamente a protrombina, transformando-a em trombina; entretanto, quando combinado com fosfolípido, um cofator protéico (Va) e com o cálcio, o fator Xa ativa rapidamente a protrombina (complexo tenase) (GENTRY, 2006).

No final do processo, a trombina converte o fibrinogênio em monômeros de fibrina que se polimerizam em um gel insolúvel, envolvendo as plaquetas e outras células circulantes em um tampão hemostático secundário definitivo, os polímeros de fibrina são ligados covalentemente e estabilizados pelo fator XIIIa, que também é ativado pela trombina (MITCHELL, 2010).

Os fatores de coagulação são, em sua maioria, proteínas sintetizadas no fígado. A vitamina K (usada como cofator) é necessária para a síntese dos fatores II, VII, IX e X e da proteína C. O cálcio (fator IV) é necessário em todas as etapas do processo da coagulação, exceto as duas primeiras (GASPARD, 2010). O

mecanismo pelo qual os fatores V e VIII são ativados permanece obscuro (GENTRY, 2006).

O fator de Von Willebrand (FvW) é uma grande molécula, de alto peso molecular, que carrega as moléculas do fator VIII (fator anti-hemofílico). Ambos os fatores são fundamentais para a adesão plaquetária da hemostasia primária (TAKAHIRA, 2003). Toda a cascata de coagulação está demonstrada na Figura 3.

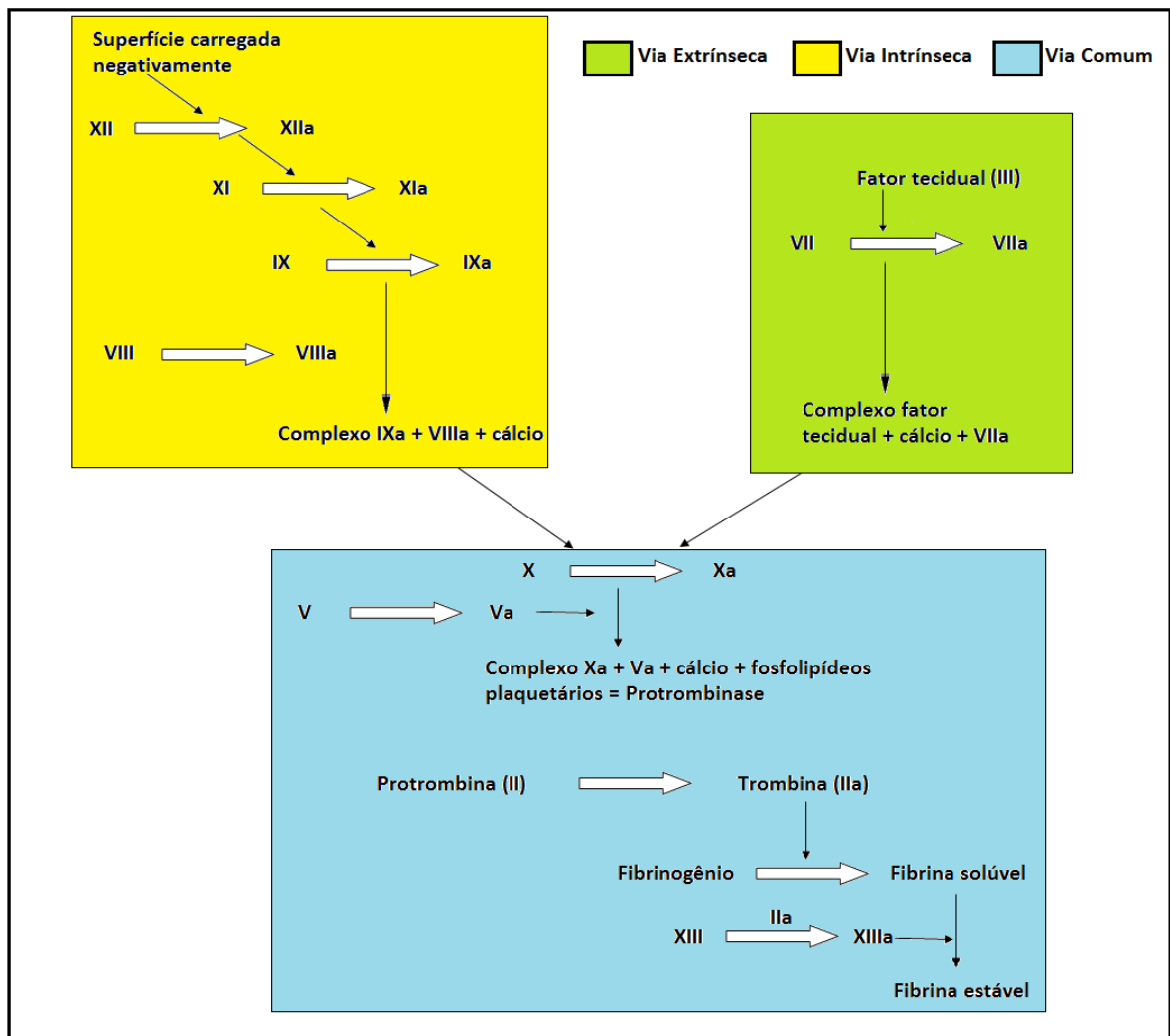


Figura 3. Esquema demonstrando a cascata da coagulação (Fonte: modificado de JAIN, 1993).

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 normais, mas tem hemorragia. A via extrínseca por si só não

sustenta a formação do coágulo de fibrina, ela necessita da via intrínseca, porque o fator IX ativado é fundamental na manutenção dos níveis de fator VIIa. 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 & HASHIMOTO, 2006).

1.2.2.3. Hemostasia Terciária

A hemostasia terciária consiste no processo de fibrinólise, que controla a deposição de fibrina. Na presença da fibrina, o plasminogênio é ativado pela proteólise limitada do ativador de plasminogênio tecidual (t-PA). Este plasminogênio produz plasmina, que degrada a rede de fibrina. O t-PA é inibido pelo inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1 e PAI-2). Ao contrário das enzimas envolvidas na coagulação, a plasmina tem uma grande especificidade de ação e pode degradar, além da fibrina, fibrinogênio e outras proteínas. Além disso, há outros componentes do processo de anticoagulação que também inibem a cascata da coagulação em diferentes pontos de atuação. A antitrombina III, que tem sua ação potencializada pela formação de um complexo com a heparina; e as proteínas C e S, que interagem com seus respectivos receptores e inativam fatores de coagulação pertencentes às vias extrínseca e comum (BOUÇAS et al., 2006).

Após ter exercido sua função, que é a de evitar o extravasamento de sangue para fora do leito vascular, o coágulo precisa ser dissolvido, para não se tornar um trombo (SCHALM, 1975; GENTRY, 2006). Esse processo é conhecido como fibrinólise e começa pouco depois da formação do coágulo, permitindo o restabelecimento do fluxo sanguíneo e o reparo permanente do tecido (GASPARD, 2010). Didaticamente, é possível citar três mecanismos principais de anticoagulação, que são responsáveis por interromper a formação do coágulo em diferentes pontos de atuação na cascata de coagulação. Estes mecanismos são realizados pela plasmina, pela antitrombina III e as proteínas C e S (TAKAHIRA, 2003).

O sistema fibrinolítico é constituído por uma série de proteínas (ativadoras e inibidoras) produzidas principalmente pelo fígado, endotélio vascular (COELHO;

MOREIRA, 2001), como também pelos rins (GASPARD, 2010). É iniciado por um processo no qual os filamentos de fibrina do coágulo e determinados fatores de coagulação, como o fibrinogênio, o fator V, o fator VIII, a protrombina e o fator XII (GASPARD, 2010) são digeridos em pequenos fragmentos e peptídeos mediante a ação da plasmina (LANGER; WOLOSKER, 1969; BAKER, 2007), que é uma enzima gerada pelo catabolismo enzimático do plasminogênio inativo (SCHALM, 1975), ou por uma via dependente do fator XII ou por ativadores de plasminogênio (BAKER, 2007; MITCHELL, 2010).

O mais importante dos ativadores de plasminogênio é o t-PA (ativador do plasminogênio tecidual), que é sintetizado principalmente pelas células endoteliais e possui afinidade pela fibrina, agindo melhor em locais com formação recente de trombos. Outro ativador de plasminogênio é o u-PA (ativador do plasminogênio semelhante à urocinase), que pode ativar a plasmina na fase líquida (MITCHELL, 2010; GASPARD, 2010).

A produção de plasmina confina-se à área de trombose (COELHO; MOREIRA, 2001), e a lise do coágulo ocorre primariamente de dentro para fora e evita em grande parte a geração sistêmica de plasmina (SCHALM, 1975).

Os fragmentos originados da degradação da fibrina são denominados produtos de degradação da fibrina (PDF) e são retirados da circulação pelo sistema monocítico fagocitário. Estes PDF também atuam como anticoagulantes na circulação (GASPARD, 2010).

Para evitar que o excesso de plasmina lise os trombos indiscriminadamente em várias partes do corpo, a plasmina livre é rapidamente inativada pelo inibidor α_2 -plasmina. As células endoteliais também modulam o equilíbrio coagulação/anticoagulação através da liberação do inibidor do ativador de plasminogênio (IPA), que bloqueia a fibrinólise através da inibição da ligação do t-PA e o u-PA à fibrina (MORRIS, 2000; MITCHELL, 2010).

A antitrombina III (AT-III) é o principal inibidor fisiológico da coagulação encontrado no plasma, assim como em sítios extravasculares. É uma glicoproteína produzida pelo fígado, com uma meia-vida de menos de dois dias, e age contra os fatores ativados XII, XI, IX, X e II. A antitrombina III também age contra a plasmina e a calicreína. A ação da antitrombina III é altamente potencializada pela heparina

(JAIN, 1993), pois a interação destas duas moléculas induz a uma mudança conformacional da AT-III, que acelera em mais de mil vezes a inibição da trombina, assim como de outras proteinases da cascata de coagulação. Nestas condições, é formado um complexo ternário envolvendo o co-fator II da heparina e a antitrombina. Este complexo é responsável por efeitos anticoagulantes que podem prolongar o tempo de coagulação sanguínea (SAMPAIO et al., 2006). A heparina, produzida exclusivamente em grânulos de armazenamento dos mastócitos, é um anticoagulante que pode exigir a monitoração constante do tempo de tromboplastina ativado (TTPA) quando é administrado por via exógena. Também causa efeitos anticoagulantes variados, inabilidade de inibir a trombina ligada ao coágulo, e aumenta a ocorrência de trombocitopenia em alguns pacientes (NADER et al., 2001).

A proteína C (PC) e proteína S (PS) são proteínas plasmáticas anticoagulantes dependentes de vitamina K, que circulam no plasma como precursores inativos. As células endoteliais possuem receptores de membrana para proteína C e trombina denominados trombomodulinas, que se ligam à trombina. Quando a trombina gerada na cascata da coagulação e a PC ligam-se à trombomodulina nas células endoteliais intactas, a trombina ligada perde sua atividade procoagulante e, então, torna-se uma potente ativadora da proteína C (DAY et al., 2001). A PC ativada interage com seu cofator, a PS, formando um complexo que inativa os fatores Va e VIIIa por proteólise limitada e, nestas condições, interrompe o processo de coagulação (BOUÇAS et al, 2006). A ação dos inibidores da coagulação está descrita na Figura 4.

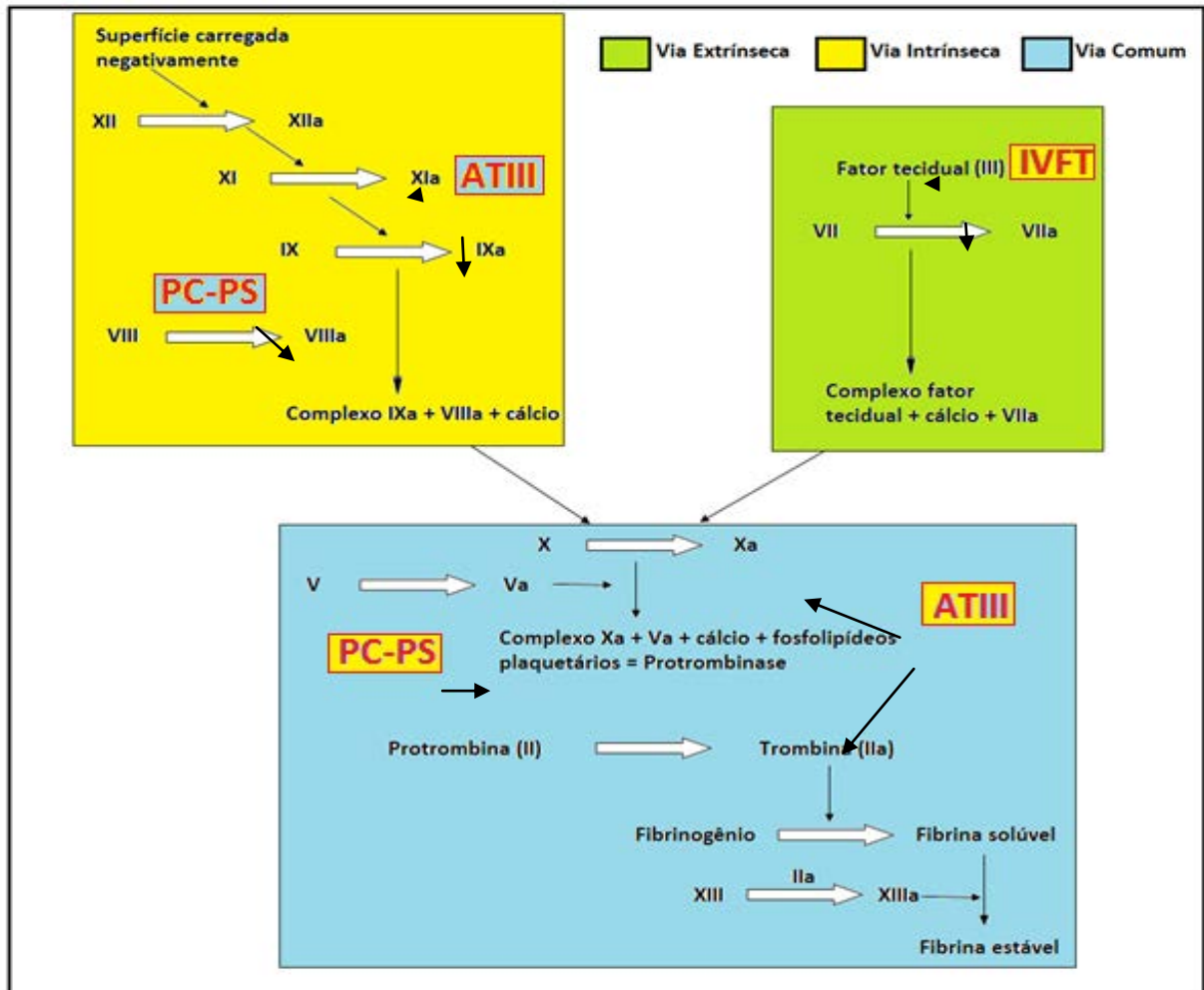


Figura 4. Pontos de ação dos inibidores fisiológicos de coagulação na cascata de coagulação (Fonte: modificado de JAIN, 1993; adaptado de SILVA & HASHIMOTO, 2006). Abreviações: ATIII, antitrombina-III; PC-PS, complexo proteínas C e S; IVFT, inibidor da via do fator tecidual.

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).

O inibidor da via do fator tecidual (IVFT) é um inibidor específico da via extrínseca e forma um complexo ternário com o fator III e fator VIIa. O fator tecidual tem um papel importante na inflamação. Células endoteliais normais sintetizam óxido nítrico, que promove vasodilatação, fibrinólise devido a síntese de t-PA e PAI-1, sintetiza e secreta componentes como o inibidor da via do fator tecidual e o sulfato de heparina. O IVFT também é uma proteína que se liga a heparina (BOUÇAS et al., 2006), é liberado pelas células endoteliais, e inibe o complexo do fator tecidual + fator VIIa + fator Xa, essencialmente desligando a iniciação do complexo fator

tecidual + fator VIIa de coagulação, e afetando, principalmente, a via extrínseca da cascata de coagulação (KONKLE, 2013).

1.2.2.4. Papel da heparina na cascata de coagulação

As ações biológicas da heparina podem ser divididas em mediadas ou não pela antitrombina. As atividades anti-fator Xa e anti-fator IIa estão entre as dependentes de antitrombina. Já a liberação de IVFT, o aumento na expressão de sulfato de heparina das células endoteliais, a interação com co-fator II, a inibição da ação procoagulante de leucócitos, a promoção da fibrinólise e a modulação do endotélio vascular mediado ou não por receptor, entre outras, são ações independentes da antitrombina (BOUÇAS et al., 2006).

A heparina apresenta efeitos inibitórios sobre a ação da trombina, e sobre o fator Xa, que possui uma posição central na cascata de coagulação. O fator Xa é importante tanto para o sistema intrínseco como para o extrínseco da coagulação, e influencia também na agregação plaquetária. Os testes de coagulação baseados na medida do tempo de coagulação do sangue total ou plasma são, teoricamente, sensíveis à heparina. No entanto, os testes plasmáticos como o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de trombina (TT) e determinação da atividade residual do fator Xa possuem maior sensibilidade e precisão (HAMERSCHLAK & ROSENFELD, 1996).

O TTPA é bastante sensível à concentração dos fatores da via intrínseca e da via comum, e é o teste de escolha para monitorização do uso da heparina, apesar de o tempo de protrombina (TP) também ser alterado com o uso da heparina; porém, em menor intensidade (CLÉ, 2010).

1.2.3. Avaliação da Hemostasia em Cães com Neoplasias

Desordens hematológicas são frequentes em pequenos animais com tumores, e podem ser resultado direto dos efeitos do crescimento tumoral ou da síndrome paraneoplásica (CHILDRESS, 2012). Alterações hemostáticas subclínicas em cães com câncer parecem ser comuns, (ANDREASEN et al., 2012) e podem estar associadas tanto com aumento como diminuição no número de plaquetas. Porém, avaliações laboratoriais para identificação de alterações na hemostasia primária ou secundária não são realizadas rotineiramente em pacientes oncológicos (KRISTENSEN et al., 2008).

O crescimento tumoral está altamente associado ao desenvolvimento do estado de hipercoagulabilidade, o que sugere que pacientes oncológicos apresentem um processo contínuo de formação e remoção de fibrina em diferentes níveis. A fibrina e outros componentes do coágulo desempenham papel não só na trombogênese como também na adesão e propagação de trombos, e no desenvolvimento de metástase tumorais. Estudos já demonstraram a presença de fibrina e plugs plaquetários dentro e ao redor de vários tipos de tumores, o que sugere uma ativação local da coagulação sanguínea e um envolvimento dos mecanismos da coagulação no crescimento de tecidos malignos. Células malignas podem ativar a coagulação de várias formas: 1) produzindo atividades pró-coagulantes, fibrinolíticas e pró-agregadoras; 2) liberando citocinas inflamatórias e angiogênicas; 3) interagindo diretamente com as elementos do sangue e dos vasos (como células endoteliais, leucócitos e plaquetas), por meio de moléculas de adesão (PRANDONI et al., 2005).

Outros estudos demonstraram que alguns tipos de tumores também levam a um estado de hipocoagulabilidade, causada por uma redução no número de plaquetas, alteração na função plaquetária, diminuição nas concentrações ou alteração funcional das proteínas plasmáticas da coagulação, produção tumoral de substâncias anticoagulantes, alterações na viscosidade plasmática ou a combinação de todos estes fatores citados. Trombocitopenia é frequentemente vista em pacientes caninos com câncer, ocorrendo em mais de 36% dos cães com neoplasias não tratadas. Os mecanismos causadores de trombocitopenia relacionados à

presença de tumores incluem a redução na produção de plaquetas, um aumento no sequestro e destruição plaquetárias, e aumento no consumo ou utilização das plaquetas (CHILDRESS, 2012).

Outra possível causa do estado de hipocoagulabilidade em pacientes caninos oncológicos é a liberação dos grânulos de heparina de mastócitos neoplásicos, que, quando estimulados, podem desencadear uma reação anticoagulante na circulação sistêmica em pelo menos alguns dos cães com mastocitoma. Variações na quantidade desta liberação estariam ligadas ao tamanho do tumor e ao número de grânulos produzidos pelos mastócitos, e à velocidade de formação do complexo heparina-histamina, que pode ocorrer quando há degranulação de mastócitos. Este complexo pode inativar a ação da heparina sobre a circulação sistêmica (HOTTENDORF et al., 1965).

Desta forma, pacientes com neoplasias podem estar sujeitos ao desenvolvimento de distúrbios hemostáticos, tanto por excesso, como por deficiência do processo de coagulação.

1.3. REFERÊNCIAS

ANDREASEN, E. B.; TRANHOLM, M.; WIINBERG, B.; MARKUSSEN, B.; KRISTENSEN, A. T. Haemostatic alterations in a group of canine cancer patients are associated with cancer type and disease progression. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 54, n. 1, p. 1-8, 2012.

BAKER, D.C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. p. 170-187.

BENTUBO, H. D. L.; TOMAZ, M. A.; BONDAN, E. F.; LALLO, M. A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1021-1036, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000400016>>.

BERGMAN, P. J. Canine Mast cell tumours: margins, markers and prognostic factors. **Metropolitan New Jersey Veterinary Medical Association**, New Jersey, 2008. Disponível em: <<http://www.mnjvma.org/mnjvma/notes?year=2009>>. Acesso em: 14 de abril de 2015.

BLACKWOOD, L.; MURPHY, S.; BURACCO, P.; DE VOS, J. P.; FORNEL-THIBAUD, P.; HIRSCHBERGER, J.; KESSLER, M.; PASTOR, J.; SAVARY-BATAILLE, K.; ARGYLE, D. J. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. **Veterinary and Comparative Oncology**, Oxford, v. 10, n. 3, e1-e29, 2012.

BOUÇAS, R. I.; SAMPAIO, L. O.; ANDRADE, G. P. V.; LOPES, C. C.; NASCIMENTO, F. D.; TERSARIOL, I. L. S.; ROCHA, H. A. O.; NADER, H. B. Heparin and heparin derivatives and their effect on hemostasis. In: VERLI, H. **Insights into carbohydrate structure and biological function**, Trivandrum, Kerala, India: Transworld Research Network, v.37, n. 2, p. 145–159, 2006.

CHILDRESS, M. O. Hematologic abnormalities in the small animal cancer patient, **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.42, n.1, p.123–155, 2012.

CLÉ, D. V.; GARCIA, A. A.; BRUNETTA, D. M.; SCHWARTZMANN, P. V.; MORIGUTI, J. C. Anticoagulação em pacientes hospitalizados. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.43, n.2, p.107-117, 2010.

COELHO, T. H.; MOREIRA, A. L. Função hemostática e sua avaliação: texto de apoio. **Serviço de Fisiologia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto**, 2001. Disponível em: <<http://www.unirio.br/farmacologia/aulas%20fisiologia/9.%20SANGUE/Hemostase%20UNIV%20PORTO.pdf>>. Acesso em: 10 de abril de 2015.

DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. D. **Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine**, Ames: Iowa University Press, 2001.

DOBSON, J. M.; SCASE, T. J. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 48, n. 8, p. 424-431, 2007.

FIGHERA, R. A.; SOUZA, T. M.; SILVA, M. C.; BRUM, J. S.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesoregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 229-237, 2001.

GARRETT, L. D. Canine mast cell tumors: diagnosis, treatment and prognosis. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, Auckland, v. 5, n. 1, p. 49-58, 2014.

GASPARD, K. J. Distúrbios da hemostasia. In: PORTH, C. M.; MATFIN, G. **Fisiopatologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap.13, p.269-285.

GENTRY, P. A. Coagulação sanguínea e hemostasia. In: REECE, W. O. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.4, p.49-64.

GOLDSCHMIDT, M. H.; HENDRICK, M. J. Tumors of the skin and soft tissues: Mast cell tumor. In: MEUTEN, D.J. **Tumors in domestic animals**. 4. ed. Ames: Iowa State Press, 2002. Cap. 2, p. 105-108.

HAYASHI, T.; WU, H.; INOUE, M. Immunohistochemical Expression of p21 Canine Cutaneous Mast Cell Tumors and Histiocytomas. **Veterinary Pathology**, Philadelphia: Lea & Febiger, v. 41, n. 3, p. 296-299, 2004.

HAMERSCHLAK, N.; ROSENFELD, L. G. M. Heparina e anticoagulantes na trombose venosa e embolia pulmonar. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 67, n. 3, p. 209-213, 1996.

HOTTENDORF, G. H; NIELSEN, S. W.; KENYON, A. J. Canine mastocytoma: I. Blood coagulation time in dogs with mastocytoma. **Veterinary Pathology**, Philadelphia: Lea & Febiger, v. 2, p. 129–141, 1965.

HOWARD, E. B.; SAWA, T. R.; NIELSEN, S. W.; KENYON, A. J. Mastocytoma and gastroduodenal ulceration: gastric and duodenal ulcers in dogs with mastocytoma. **Veterinary Pathology**, Philadelphia: Lea & Febiger, v. 6, n. 2, p. 146-158, 1969.

JAIN, N. C. Coagulation and its disorders. In: _____. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia : Lea & Febiger, 1993. Cap.5, p. 82-104.

JOHNSON, T. O., SCHULMAN, F. Y., LIPSCOMB, T. P. & YANTIS, L. D. Histopathology and biologic behavior of pleomorphic cutaneous mast cell tumors in fifteen cats. **Veterinary Pathology**, Philadelphia, v. 39, n. 4, p. 452-457, 2002.

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

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 1997. p. 880-881.

KENYON, A. J.; RAMOS, L.; MICHAELS, E. B. Histamine-induced suppressor macrophage inhibits fibroblast growth and wound healing. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 44, n. 11, p. 2164-2166, 1983.

KIUPEL M., WEBSTER J. D., BAILEY K. L., BEST S., DELAY J., DETRISAC C. J., FITZGERALD S. D., GAMBLE D., GINN P. E., GOLDSCHMIDT M. H., HENDRICK M. J., HOWERTH E. W., JANOVITZ E. B., LANGOHR I., LENZ S. D., LIPSCOMB T. P., MILLER M. A., MISDORP W., MOROFF S., MULLANEY T. P., NEYENS I., O'TOOLE D., RAMOS-VARA J., SCASE T. J., SCHULMAN F. Y., SLEDGE D., SMEDLEY R. C., SMITH K., SNYDER P. W., SOUTHORN E., STEDMAN N. L., STEFICEK B. A., STROMBERG P. C., VALLI V. E., WEISBRODE S. E., YAGER J., HELLER J. & MILLER R. Proposal of a two-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. **Veterinary Pathology**, v. 48, n. 1, p. 147-155, 2011.

KONKLE, B. Sangramento e trombose. In: LONGO, D. L. **Hematologia e Oncologia de Harrison**, 2.ed. Nova Iorque: McGraw-Hill Global Education Holdings, 2013. Cap. 3, p. 20.

KRISTENSEN, A. T.; WIINBERG, B.; JESSEN, L. R.; ANDREASEN, E.; JENSEN, A. L. Evaluation of human recombinant tissue factor-activated thromboelastography in 49 dogs with neoplasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 22, n. 1, p. 140-147, 2008.

LANGER, B.; WOLOSKER, M. Coagulação e fibrinólise: idéias atuais e suas aplicações clínicas. **Revista Medicina**, Ribeirão Preto, v. 53, p. 165-172, 1969.

LAVALLE, G. E., ARAÚJO, R. B.; CARNEIRO, R. A. Tratamento Clínico e Cirúrgico de Mastocitomas em Cães. **A Hora Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 21-28, 2004.

LEMARIÉ, J. R.; LEMARIÉ, L. S.; HEDLUND, S. C. Mast cell tumors: Clinical management. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 17, n. 9, p. 1085-1101, 1995.

LONDON, C.; SEGUIN, B. Mast Cell Tumors in the Dog. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 473-489. 2003.

LOPES, S. T. A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. p. 77-99.

MERLO, E. M. Mastocitoma Cutâneo Canino: Un Reto Para El Veterinario. **Profesión Veterinaria**, ano 12, n. 47, 2000. Disponível em: <http://www.colvet.es/Madrid/revista/may_jun_00/casoclinico.htm>.

MITCHELL, R. N. Distúrbios hemodinâmicos, doença tromboembólica e choque. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. **Robbins & Cotran Patologia - Bases patológicas das doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 4, p. 111-134.

MODIANO, S. F.; BREEN, M. The etiology of câncer. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M. **Withrow and MacEwen's Small Clinical Oncology**. 4.ed. Saint Louis: Saunders-Elsevier, 2007. p. 3-30.

NADER, H. B.; PINHAL, E. S.; BAÚ, E. C.; CASTRO, R. A. B; MEDEIROS, G. F.; CHAVANTE, S. F.; LEITE, E. L.; TRINDADE, E. S.; SHINJO, S. K.; ROCHA, H. A. O.; TERSARIOL, I. L. S.; MENDES, A.; DIETRICH, C. P. Development of new heparin-like compounds and other antithrombotic drugs and their interaction with vascular endothelial cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, n. 6, p. 699-709, 2001.

PATNAIK, A. K.; EHLER, W. J.; MACEWEN, E. G. Canine cutaneous mast cell tumors: morphologic grading and survival time in 83 dogs. **Veterinary Pathology**, v. 21, n. 5, p. 469-474, 1984.

POLLACK, J. M.; FLANDERS, A. J.; JOHNSON, C. R. Disseminated malignant mastocytoma in a dog. **The Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 27, n. 4, p. 435-440, 1991.

PRANDONI, P.; FALANGA, A.; PICCIOLI, A. Cancer and venous thromboembolism. **The Lancet Oncology**, v. 6, n. 6, p. 401-410, 2005.

RECH, R. R.; GRAÇA, D. L.; KOMMERS, G. D.; SALLIS, E. S. V.; RAFFI, M. B.; GARMATZ, S. L. Mastocitoma cutâneo canino. Estudo de 45 casos. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 56, n. 4, p. 441-448, 2004.

ROCHA, T. M. et al. Mastocitoma em cães. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 52, p. 42-54, 2004.

SAMPAIO, L. O.; TERSARIOL, I. L. S.; LOPES, C. C.; BOUÇAS, R. I.; NASCIMENTO, F. D.; ROCHA, H. A. O.; NADER, H. B. Heparins and heparan sulfates. Structure, distribution and protein interactions. In: VERLI, H. **Insights into Carbohydrate Structure and Biological Function**. Trivandrum, Kerala, India: Transworld Research Network, 2006.

SCHALM, O. W.; JAIN, N. C.; CARROLL, E. J. **Veterinary hematology**. 3.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1975.

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

SUEIRO, F. A. R., DALECK, C. R., ALESSI, A. C. Ultra-estrutura dos Mastócitos de Diferentes Tipos Histológicos de Mastocitoma em Cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 3, p. 255-258, 2002 .

TAKAHASHI, T.; KADOSAWA, T.; NAGASE, M.; MATSUNAGA, S.; MOCHIZUKI, M.; NISHIMURA, R.; SASAKI, N. Visceral mast cell tumors in dogs: 10 cases (1982-1997). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 2, p. 222-226, 2000.

TAKAHIRA, R. K., Distúrbios da hemostasia em veterinária: patogenia e avaliação clínico-laboratorial. In: I SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, Porto Alegre. **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**, Porto Alegre: UFRGS, 2003. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/SPCV2003.pdf#page=47>>. Acesso em: 01 de maio de 2015.

TAMS, T. R.; MACY, D. W. Canine mast cell tumors. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 3, n. 10, p. 869-877, 1981.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007.

TURIN, L.; ACOCELLA, F.; STEFANELLO, D.; OSELIERO, A.; FONDRINI, D.; BRIZZOLA, S.; RIVA, F. Expression of c-KIT proto-oncogene in canine mastocytoma: a kinetic study using real-time polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 18, n. 4, p. 343-349, 2006.

WEBSTER, J. D., YUZBASIYAN-GURKAN, V.; MILLER, R. A.; KANEEFE, B.; KIUPEL, M. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 3, p. 298-308, 2007.

WITHROW, S. J. Why worry about cancer in pets? Introduction. In: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E.G. **Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology**. 4.ed. Philadelphia: Saunders, 2007. p. 15-17.

CAPÍTULO 2 – Aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada em cães com mastocitoma cutâneo

Resumo

Os sinais clínicos dos mastocitomas decorrem da eliminação dos grânulos dos mastócitos, que, quando estimulados, provocam a produção e liberação de vários mediadores, como histamina e heparina. No mastócito neoplásico, estas substâncias estão aumentadas em 25 a 50 vezes, comparado a um mastócito típico. A heparina forma um complexo ternário com a antitrombina III e inibe a formação de trombina, que pode levar a um aumento no tempo de coagulação. O objetivo do presente estudo foi avaliar laboratorialmente a hemostasia primária e secundária dos animais com tumor de mastócitos e correlacionar tais achados com o grau histopatológico do tumor, utilizando a classificação de Kiupel (2011) para mastocitomas. Para isto, foram avaliados 50 cães, sendo 20 animais hígidos que compuseram o grupo controle (GC), e 30 cães com mastocitoma cutâneo, que constituíram o grupo doente (GD). Os testes hemostáticos realizados em todos os animais foram o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), fibrinogênio e número de plaquetas. Os tumores dos animais do GD ainda foram classificados histologicamente em Alto Grau de malignidade (grupo SK1) e Baixo Grau de malignidade (grupo SK2). Verificou-se que a heparina liberada dos grânulos dos mastócitos neoplásicos ativados parecem ser capazes de interferir na hemostasia secundária, uma vez que a heparina age na via intrínseca. Dentre os parâmetros avaliados, houve aumento no TTPA em um número significativo de animais do GD e, portanto, esta foi considerada a variável que sofreu a maior modificação no GD, principalmente no grupo SK1. Já o TP e as plaquetas também se mostraram pouco alterados; mas tais modificações foram fortemente associadas apenas ao grupo SK1. Concluiu-se que o mastocitoma parece pouco alterar a hemostasia primária; porém, a hemostasia secundária foi alterada em pelo menos 70% dos animais do GD.

Palavras-chave: hemostasia, heparina, mastócitos, neoplasia, TTPA.

“Increase in activated partial thromboplastin time in dogs with cutaneous mastocytoma”

Abstract

Clinical signs of mast cell tumors arise from the removal of the mast cell granules, which, when stimulated, causes the production and release of several mediators, like histamine and heparin. In neoplastic mast cells, these substances are increased by 25 to 50 times, compared to a typical mast cell. Heparin forms a ternary complex with antithrombin III and inhibits the formation of thrombin, which may lead to an increase in clotting time. The aim of this study was to evaluate laboratory primary and secondary hemostasis in animals with mast cell tumor and correlate these findings with histological grade of the tumor, using the Kiupel (2011) classification for mast cell tumors. For this, there were 50 dogs, 20 healthy animals comprised the control group (GC), and 30 dogs with cutaneous mast cell tumors, which constituted the sick group (GD). Hemostatic tests performed on all animals were activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), fibrinogen and platelet counts. Tumors of GD animals were further histologically classified in High-grade malignancy (SK1 group) and Low-grade malignancy (SK2 group). In the results, it was found that the heparin released from the granules of activated neoplastic mast cells seem to be able to interfere in secondary hemostasis, since that heparin acts in the intrinsic pathway. Among the evaluated parameters, there was an increase in APTT in a significant number of animals of GD, and, therefore, APTT was considered the variable that suffered the biggest change in GD, mainly in tumors classified into High-grade. Already the PT and platelets also showed little change; but these changes were strongly associated only with the SK1 group. It was concluded that the mast cell tumor appears to slightly alter primary hemostasis; however, secondary hemostasis has been changed by at least 70% of the animals from GD.

Keywords: APTT, hemostasis, heparin, neoplasia.

2.1. Introdução

Os mastócitos têm sido, primariamente, associados a reações ou desordens alérgicas (LONDON & SEGUIN, 2003). No entanto, a degranulação dos mastócitos também pode ser induzida por eventos químicos, físicos ou neurológicos. Cada mastócito apresenta cerca de 1000 grânulos secretórios contendo substâncias biologicamente ativas, tais como heparina, histamina e enzimas proteolíticas. Estas substâncias são liberadas no processo de degranulação e suscitam os sintomas associados à hipersensibilidade do tipo I (BROSTOFF & HALL, 1992). Os mediadores liberados induzem inúmeros eventos, incluindo-se o aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, espasmos de músculos lisos, prurido, anticoagulação, secreção de muco, ativação de eosinófilos e neutrófilos, entre outros estímulos (ABBAS et al., 2000).

De forma semelhante aos mastócitos normais, os mastócitos neoplásicos apresentam granulações citoplasmáticas com quantidade variável de aminas vasoativas como heparina e histamina. Muitas vezes estas substâncias podem estar aumentadas 25 a 50 vezes em relação a um mastócito típico (ROGERS, 1996). A liberação maciça dessas substâncias pode causar graves efeitos sistêmicos como ulceração gastrointestinal (VAN PELT, 1986) e coagulopatias (MACY, 1986).

A histamina também causa danos ao endotélio vascular de arteríolas e vênulas, levando à liberação de fibrolisina (HOLEMAN & LANGDELL, 1964). Supõe-se que tal evento possa danificar os vasos sanguíneos da submucosa gástrica pela dilatação de vênulas e capilares, aumento de permeabilidade endotelial e, conseqüentemente, trombose intravascular e necrose isquêmica da mucosa (TAMS & MACY, 1981; CALVERT, 1984; MACY, 1985).

Em algumas ocasiões, os defeitos de coagulação local causados pelos mastocitomas podem ser tão importantes que conferem à massa tumoral uma aparência de hematoma ou tumor vascular (MERLO, 2000).

Alterações na coagulação são frequentemente associadas aos mastocitomas, sendo um dos sinais clínicos produzidos pelas úlceras gastroduodenais. Estas podem ser o primeiro motivo da consulta, visto que os proprietários não relacionam a presença de vômitos ao surgimento de uma massa cutânea, que pode ter tido uma evolução lenta e pouco aparente (O'KEEFE, 1990).

A causa mais frequente de disfunção dos fatores de coagulação na oncologia veterinária é provavelmente a produção e liberação da heparina pelos mastocitomas. A heparina, como cofator para a antitrombina, e a atividade combinada destas moléculas inativam o fator Xa, prevenindo a conversão da protrombina em trombina. Sangramentos prolongados podem ocorrer após citologia aspirativa com agulha fina, biópsia ou excisão cirúrgica de mastocitomas. Hemorragias espontâneas também podem ser observadas em alguns destes pacientes (CHILDRESS, 2012).

A heparina age como um componente anticoagulante porque forma um complexo ternário com a antitrombina III e diferentes proteases da cascata de coagulação. A inibição da trombina pela antitrombina é acelerada em mais de mil vezes na presença da heparina. A heparina também é capaz de potencializar o efeito do co-fator II da heparina, que é específico para a trombina. Também libera e aumenta a síntese do inibidor da via do fator tecidual pelas células endoteliais, interrompendo a via extrínseca da cascata de coagulação (NADER et al., 2001).

Hottendorf et al. (1965) concluíram que a heparina ou um produto ativo da heparina é liberado do mastocitoma na circulação sistêmica em pelo menos alguns dos cães com esta neoplasia, mesmo que parte destes animais apresentem tempos de coagulação normais. A ligação de heparina às proteínas pareceu reduzir ou eliminar sua atividade anticoagulante (JAQUES, 1943). O complexo heparina-histamina pode inativar fisiologicamente a heparina (LARSSON, 1957). Alguns estudos mostraram que a heparina é rapidamente removida da circulação sistêmica (OLSSON, 1963), e variações na velocidade de remoção da heparina poderiam afetar o tempo de coagulação. Paff and Bloom (1949) demonstraram ainda que, em células de mastocitoma cultivadas *in vitro*, a liberação de heparina é resultado de modificações degenerativas dos mastócitos, corroborando com a possibilidade de os efeitos de hipocoagulabilidade no mastocitoma serem relacionados à classificação e gradação do mastocitoma. Pode-se supor que mastocitomas mais indiferenciados podem liberar na circulação sanguínea mais grânulos de heparina que os demais, devido a um maior grau de degeneração celular (HOTTENDORF et al., 1969; PAFF & BLOOM, 1969), embora os mastocitomas bem diferenciados é que apresentem um maior número de grânulos de heparina em seu citoplasma (BICHARD & SHERDING, 1998). Foi verificado que o grupo de cães com mastocitoma que apresentaram os tempos de coagulação prolongados tinham tumores de tamanho intermediário (HOTTENDORF et al., 1965).

Diante de todas as confirmações de distúrbios hemostáticos associados aos processos neoplásicos e, especialmente aos mastocitomas, devido aos seus grânulos de heparina, é de fundamental importância que as alterações hemostáticas sejam estudadas e reconhecidas no paciente canino acometido por este tipo de neoplasia. Sendo o mastocitoma um tumor frequente em cães, e seu tratamento majoritariamente cirúrgico, o médico veterinário deve saber quais os tipos de alterações hematológicas atribuídas ao desenvolvimento desta neoplasia, para que possa indicar a realização de exames laboratoriais com antecedência, e prevenir ou estar preparado para possíveis complicações hemostáticas.

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a hemostasia primária e secundária em cães diagnosticados com mastocitoma cutâneo, na ausência de qualquer tratamento prévio. Também foi avaliada a relação entre os distúrbios hemostáticos e o grau histopatológico do tumor, com base na classificação mais utilizada atualmente para esta neoplasia, a de Kiupel (2011).

2.2. Material e Métodos

O projeto de pesquisa que originou o presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP), sob protocolo nº 22073/14.

Foram avaliados 50 cães com ou sem raça definida, entre machos e fêmeas, distribuídos em dois grupos: grupo de animais sadios (grupo controle - GC): 20 cães, na idade adulta, vacinados e desverminados, com perfis hematológico e bioquímico sanguíneo normais; grupo de animais com mastocitoma cutâneo (grupo doente – GD): 30 cães com o diagnóstico de mastocitoma cutâneo confirmado por avaliação citológica e histopatológica do tecido acometido. Dentre os animais do GD, subclassificamos os pacientes com mastocitomas de Alto Grau em subgrupo SK1, e com mastocitomas de Baixo Grau em subgrupo SK2.

O diagnóstico do mastocitoma canino foi confirmado através da citologia aspirativa com agulha fina (CAAF) e da biópsia incisional ou excisional, conforme a possibilidade de cada caso.

Foram realizadas coletas de sangue venoso via punção da veia cefálica ou veia jugular para avaliação do estado da hemostasia primária e secundária. Todas as coletas citadas foram

realizadas após o diagnóstico citológico do mastocitoma, antes de tratamento medicamentoso, quimioterápico ou cirúrgico.

As amostras para contagem automatizada de plaquetas foram armazenadas em tubos estéreis com volume de aspiração de 4,0 mL, contendo 7,2 mg de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). As contagens de plaquetas foram realizadas em contador automático (Coulter T890®, Coulter Electronics, EUA) imediatamente após a obtenção da amostra de sangue.

A partir do sangue venoso coletado, foram determinados os valores de fibrinogênio, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA). Todas as amostras foram armazenadas em tubos estéreis com volume de aspiração de 4,0 mL, contendo citrato de sódio a 3,2%. As alíquotas de sangue venoso citratado foram centrifugadas (2500 rpm, durante 30 minutos) à temperatura de 8°C a 10°C. O plasma foi separado e armazenado em tubos do tipo eppendorf, devidamente identificados, e mantido à temperatura de -40°C até o momento das análises. Após o término das coletas, as amostras de plasma citratado foram descongeladas e analisadas em coagulômetro (Coag 1000, WAMA Diagnostica, Brasil).

Todas as peças tumorais excisadas dos animais acometidos foram fixadas em formol a 10% e encaminhadas para exame histopatológico para confirmação diagnóstica e gradação do mastocitoma, conforme classificação de Kiupel (2011).

Para avaliar a associação entre as alterações hemostáticas e as diferentes classificações de mastocitoma, foi utilizada a Análise de Correspondência Múltipla (ACM).

Para esta análise, foram utilizados os valores dos parâmetros hemostáticos dos animais com mastocitoma, e associados com o grau de malignidade dos tumores, conforme a classificação de Kiupel (2011), que os divide em alto grau e baixo grau. Os parâmetros hemostáticos considerados foram o número de plaquetas, o tempo de protrombina, o tempo de tromboplastina parcial ativada e o fibrinogênio.

2.3. Resultados e Discussão

Conforme observado na descrição dos grupos no item Material e Métodos, os animais doentes do grupo GD foram divididos em dois subgrupos, segundo a classificação histopatológica do tumor estudado.

Conforme classificação de Kiupel, consideramos como subgrupos:

SK1: 12 animais com mastocitomas de Alto Grau

SK2: 18 animais com mastocitomas de Baixo Grau

As variáveis hemostáticas consideradas para esta análise foram: número de plaquetas, TTPA e TP. Devido ao pequeno número de animais do GD com alteração no fibrinogênio (3/30), optou-se por não incluir este parâmetro na análise multivariada, pois, em detrimento do resultado final, sua pequena representação não alteraria a avaliação da hemostasia secundária, e poderia desconfigurar as demais categorias analisadas.

A análise de correspondência utiliza o qui-quadrado (χ^2) como conceito para padronização das frequências e formação de base para as associações desejadas. O valor qui-quadrado estuda a comparação entre o valor real e o valor esperado de uma célula de uma tabela de contingência. Valores de qui-quadrado elevados quando a diferença entre o valor observado e esperado é positiva indicam preferência. Esses valores podem ser testados por uma análise de resíduos, em que valores acima de 1,9 agrupam categorias fortemente significativas; enquanto valores abaixo de 1,9 associam categorias fracamente significativas. O Quadro 1 mostra os valores de resíduos padronizados para cada categoria analisada dentro dos dois grupos principais.

Quadro 1. Resíduos padronizados e a correspondência entre os grupos controle e doente. As células em vermelho indicam valores fortemente significativos, e as células em azul indicam valores fracamente significativos.

	GD	GC	SK1	SK2	TTPA<15	TTPA≥15	TP<12	TP>=12
GD								
GC	-3,46410							
SK1	1,78885	-2,19089						
SK2	2,19089	-2,68328	-2,07846					
TTPA<15	-2,01375	2,46632	-2,63818	-0,44567				
TTPA≥15	2,36643	-2,89828	3,10023	0,52372	-3,48999			
TP<12	-0,63746	0,78072	-1,60005	0,48348	0,94011	-1,10476		
TP≥12	1,46059	-1,78885	3,66617	-1,10780	-2,15407	2,53133	-2,59230	
Plaquetas<200	1,14578	-1,40329	2,76276	-0,77658	-1,65337	1,94294	-1,48886	3,41141
Plaquetas≥200	-0,67916	0,83180	-1,63762	0,46032	0,98003	-1,15168	0,88252	-2,02211

O grupo doente mostrou estar associado a uma estrutura de dependência principal, envolvendo Kiupel – Baixo Grau e TTPA≥15 ($p<0,01$). Estas duas categorias foram as categorias mais significativas dentro do grupo doente, pois o número de animais classificados em Kiupel – Baixo Grau foi superior aos classificados em Alto Grau. Também, a alteração em TTPA (≥15 segundos) foi a mais encontrada nos animais do GD. Portanto, a primeira

estrutura de dependência está baseada na alta frequência destas características nos animais do experimento. Com uma associação menos importante, os animais classificados em Kiupel – Alto Grau também foram relacionados ao GD nesta avaliação, mas o valor do resíduo padronizado para esta categoria foi inferior a 1,9 (vide Quadro 1), então representa uma categoria fracamente significativa dentro do GD.

Além disso, há outra estrutura de dependência ligada aos animais classificados em Kiupel – Alto Grau. Foi possível verificar uma forte associação deste grupo com $TTPA \geq 15$ segundos, $TP \geq 12$ segundos e plaquetas < 200 mil/ μ L de sangue.

A partir da construção do quadro anterior, foi possível criar um Mapa Perceptual, que permite ao avaliador visualizar a proximidade entre as categorias propostas no trabalho de pesquisa (Fig. 1).

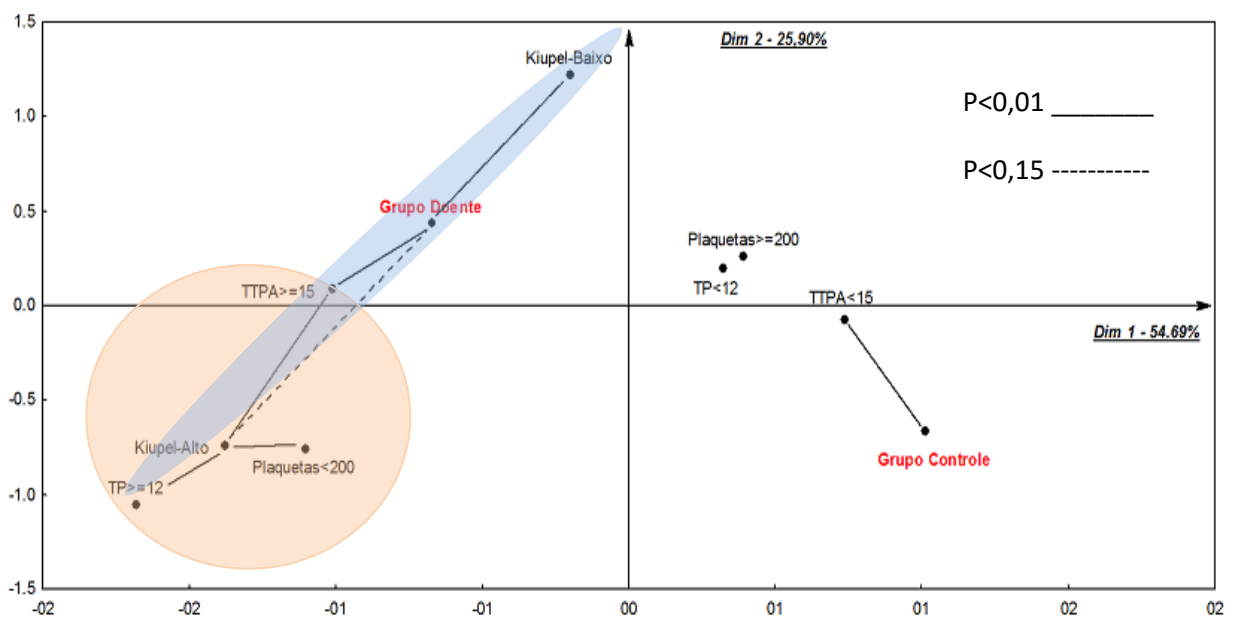


Figura 1. Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla.

O mapa perceptual mostra associações de categorias com os grupos doente (GD) e controle (GC) por proximidade espacial. Também ilustra as correspondências verificadas entre as alterações hemostáticas encontradas com as categorias das duas classificações utilizadas para mastocitomas.

As duas dimensões representam 80,59% da inércia total: 54,69% decomposta na primeira dimensão e 25,90% da inércia restante decomposta na segunda dimensão. As

contribuições relativas de cada categoria à inércia (Quadro 2) são utilizadas para calcular a qualidade da informação de cada uma das categorias no espaço conjunto. Altas contribuições à inércia correspondem às categorias determinantes para a identificação das dimensões de análise. A primeira dimensão do gráfico do mapeamento perceptual exibe a maior quantidade de inércia, sendo o mais relevante; a segunda dimensão exibe a maior quantidade de inércia depois da primeira, sendo o segundo mais importante.

Quadro 2. Inércia das categorias avaliadas de acordo com a Dimensão 1 e a Dimensão 2.

	Coordin. Dim.1	Coordin. Dim.2	Dim 1	Dim 2
Grupo Doente	-0,67425	0,44165	0,083132	0,075303
Grupo Controle	1,01137	-0,66247	0,124697	0,112955
Kiupel-Alto	-1,37972	-0,73575	0,139241	0,083595
Kiupel-Baixo	-0,20393	1,22658	0,004563	0,348500
TTPA<15	0,73542	-0,06702	0,095603	0,001676
TTPA≥15	-1,01558	0,09255	0,132023	0,002315
TP<12	0,32088	0,19980	0,026359	0,021576
TP≥12	-1,68461	-1,04893	0,138386	0,113273
Plaquetas<200	-1,10732	-0,75202	0,097161	0,094611
Plaquetas≥200	0,38906	0,26422	0,034138	0,033242

No presente estudo, as variáveis que mais contribuíram quanto à inércia foram: TTPA≥15 segundos, Kiupel Alto Grau, TP≥12 segundos para os animais do GD na dimensão 1; além de TTPA<15 segundos e Plaquetas<200 mil/μL de sangue ligados ao Grupo Controle, também na dimensão 1. Na dimensão 2, os animais classificados em Baixo Grau, e a categoria de TP≥12 segundos foram as categorias mais importantes para a inércia.

Quando se avaliou os subgrupos do GD e, ainda, com base no mapa perceptual esquematizado acima (Fig. 1), foi possível observar, de acordo com a proximidade entre as categorias, que os resultados demonstram duas estruturas principais: numa delas, o Grupo Doente ficou associado com TTPA≥15 segundos, com o grupo SK2 e, menos significativamente, com SK1. Esta relação pode ser explicada, provavelmente, pelo alto número de animais do Grupo Doente classificados em SK2 e com TTPA≥15 segundos. Os animais classificados em SK1 também foram significativos para o Grupo Doente e, de acordo com o Mapa, estão ainda mais próximos da alteração TTPA≥15 segundos. A outra estrutura de dependência mostra a proximidade entre as seguintes alterações hemostáticas: TTPA≥15

segundos, $TP \geq 12$ segundos e Plaquetas < 200 mil/ μ L de sangue, com os animais classificados em Kiupel – Alto Grau, sugerindo que os tumores de maior malignidade foram os mais associados com as alterações de coagulação. Pelo Mapa, também é possível dizer que o TTPA foi o parâmetro hemostático mais alterado nos animais do GD, pois estabelece uma forte relação com todos os animais do GD, e está alterado tanto em animais classificados em Baixo Grau, quanto em Alto Grau. Dos 30 animais avaliados no GD, 21 deles apresentaram $TTPA \geq 15$ segundos. Portanto, este parâmetro foi o mais significativo para o Grupo Doente e, por isso, também está próximo das outras alterações de hemostasia dentro do Mapa.

Fazendo uma avaliação individual dos animais apenas do SK1, houve associação desta categoria com $TTPA \geq 15$, $TP \geq 12$ e plaquetas < 200 mil/ μ L de sangue, indicando que as maiores alterações hemostáticas provavelmente são encontradas nos mastocitomas mais malignos. As alterações em tempo de protrombina (TP) e número de plaquetas apresentam, no mapa perceptual, estreita relação com os mastocitomas classificados em Alto Grau, o que sugere que estas são alterações, no geral, menos encontradas nos animais com mastocitoma, quando comparadas à alteração do TTPA. Isto porque no grupo SK2 praticamente não houve modificação no TP e no número de plaquetas, mas houve alteração em TTPA também. Os parâmetros TP e número de plaquetas demonstram ser alterações menos significativas para o GD, pois apresentaram resíduos padronizados inferiores a 1,9 e estão mais distantes do GD no mapa perceptual; porém, também chegam a ser modificadas pela presença de mastocitomas muito malignos (grupo SK1), de quem estão bem próximos no mapa perceptual. O TP estava alterado em oito, dos 30 animais do GD. Dentre estes oito animais, sete deles (87%) estavam classificados em Alto Grau (SK1) e apenas um era do SK2. O mesmo ocorre para a categoria de plaquetas < 200 mil/ μ L de sangue. De 11 animais com plaquetas < 200 mil/ μ L de sangue, oito deles (72%) eram classificados em Alto Grau. Portanto, é possível afirmar que os mastocitomas mais malignos compreendem as maiores alterações no perfil hemostático avaliado neste trabalho.

Ainda, também segundo a proximidade no Mapa, o Grupo Controle parece estar associado com $TTPA < 15$ segundos, $TP < 12$ segundos e Plaquetas ≥ 200 mil/ μ L de sangue, que são parâmetros dentro dos valores de normalidade para a espécie estudada.

Para a discussão do presente trabalho, não foram encontrados artigos recentes que avaliassem a hemostasia dos mastocitomas, especificamente. A maioria dos trabalhos que estudaram a hemostasia em pacientes com câncer fez análises que envolvessem mais de um

tipo de tumor, com discussões sobre a síndrome paraneoplásica e outras causas gerais de distúrbios de coagulação em neoplasias. Porém, poucos autores discorreram sobre possíveis alterações hemostáticas causadas pelos grânulos de heparina dos mastócitos, que são vesículas exclusivas dos mastocitomas.

Comparando o perfil hemostático dos animais do grupo doente em relação aos animais do grupo controle, pode-se inferir que os valores de TTPa aumentados nos animais do GD, independente de sua subclasse, podem estar relacionados com a liberação da heparina pelos grânulos dos mastócitos neoplásicos ativados. A heparina se liga a antitrombina III e forma um complexo anticoagulante, que atua nas vias intrínseca e comum da cascata de coagulação (BOUÇAS et al., 2006). O aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) está fortemente associado com alterações na via intrínseca da cascata, o que pode justificar o aumento deste tempo encontrado nos animais do GD. Conforme relatado por Paff & Bloom (1969), a liberação da heparina na circulação sistêmica por mastocitomas pode estar relacionada com a modificação degenerativa dos mastócitos, processo que ocorre mais frequentemente em tumores maiores ou menos diferenciados. Portanto, pode-se supor que mastocitomas mais indiferenciados podem liberar na circulação sanguínea mais grânulos de heparina que os demais, devido a um maior grau de degeneração celular (HOTTENDORF et al., 1969; PAFF & BLOOM, 1969), embora os mastocitomas bem diferenciados é que apresentem um maior número de grânulos de heparina em seu citoplasma (BICHARD & SHERDING, 1998). Esta informação é respaldada pela tabela de Burt (Tab. 1), na qual podemos observar que, dos 12 animais do subgrupo SK1, todos eles apresentaram $TTPa \geq 15s$, enquanto que dos 18 animais do subgrupo SK2, apenas nove deles apresentaram $TTPa \geq 15s$, ratificando que a malignidade do tumor deve estar associada ao aumento do TTPa.

Tabela 1. Tabela de Burt. Número de animais nas categorias avaliadas, interligando os parâmetros hemostáticos e as classificações de mastocitomas.

	GD	GC	SK1	SK2	TTPa<15	TTPa≥15	TP<12s	TP≥12	Plq<200	Plq≥200
GD	30	0	12	18	9	21	22	8	11	19
GC	0	20	0	0	20	0	20	0	2	18
SK1	12	0	12	0	0	12	5	7	8	4
SK2	18	0	0	18	9	9	17	1	3	15
TTPa<15	9	20	0	9	29	0	29	0	3	26
TTPa≥15	21	0	12	9	0	21	13	8	10	11
TP<12	22	20	5	17	29	13	42	0	6	36
TP≥12	8	0	7	1	0	8	0	8	7	1
Plq<200	11	2	8	3	3	10	6	7	13	0
Plq≥200	19	18	4	15	26	11	36	1	0	37

Alguns autores citam que há a possibilidade de a heparina ser liberada mesmo em cães com mastocitoma que apresentem tempos de coagulação normais, pois a heparina livre na circulação sistêmica pode se ligar a outras proteínas (JAQUES, 1943) e à histamina. A formação de um complexo entre a heparina e a histamina pode reduzir sua atividade ou mesmo inibir sua atividade anticoagulante (LARSSON, 1957). Outros estudos mostram que a heparina isolada é rapidamente eliminada da circulação, e a velocidade com que essa expulsão é realizada também interfere nas alterações de coagulação (OLSSON, 1963). Em tumores com maior malignidade, pode-se considerar que a quantidade de heparina liberada pelas vesículas de armazenamento seja excessiva, a tal ponto que pode não ocorrer uma formação suficiente de complexos que inibam sua atividade (HOTTENDORF, 1969). Por outro lado, animais com tumores mais indiferenciados podem apresentar déficits metabólicos, orgânicos ou imunológicos, que também podem interferir negativamente na resposta à formação destes complexos heparina-proteína ou heparina-histamina. Também é válido ressaltar que o tamanho do tumor parece estar relacionado com as alterações hemostáticas. Quanto maior a área tumoral, maior a quantidade de grânulos de heparina envolvida, e maior sua liberação sistêmica em quadros mais graves (CURRY et al., 1998; OLIVER et al., 1947).

Considerando a associação do $TP \geq 12$ em relação aos animais do grupo SK1, apesar de fracamente significativo, o prolongamento deste tempo pode representar problemas na via extrínseca da cascata de coagulação, uma vez que a inibição do fator X, promovida pela heparina, também afeta esta via (SAMPAIO et al., 2006). Além disso, a heparina também estimula a liberação de uma proteína – a partir das células endoteliais - chamada inibidor do fator da via tecidual (IVFT), que desliga uma protease plasmática responsável por regular a via extrínseca da cascata de coagulação (BOUÇAS et al., 2006), podendo ocasionar um prolongamento do tempo de protrombina (TP). Portanto, a ação deste inibidor pode desempenhar um papel nos efeitos anticoagulantes da heparina isolada, que é encontrada em menor quantidade na circulação sistêmica, devido à rápida formação de complexos heparínicos (SAMPAIO et al., 2006). A atuação de complexos formados entre a heparina e outras substâncias (proteínas e/ou histamina) ocorre com maior frequência do que a ação da heparina isolada na circulação; por isso pode-se dizer que a alteração na via extrínseca é menos significativa que a alteração na via intrínseca, mesmo que ambas possam ocorrer na vigência do mastocitoma.

Com relação ao número de plaquetas ter se mostrado fracamente associado aos animais do SK1, pode-se considerar que sua diminuição nos animais com mastocitoma pode ser decorrente de outras causas, como infecções concomitantes ou deficiências nutricionais, por exemplo de folato, e não decorrente da presença tumoral. Também pode ocorrer redução de plaquetas quando, em tumores mais agressivos, houver a invasão metastática da medula óssea (GOLDSMITH, 2001). A trombocitopenia também pode ser atribuída a consumo e destruição (processos auto-imunes), sequestro esplênico por esplenomegalia ou hiperesplenismo (TAKAHIRA, 2008). Neste estudo, houve alteração na contagem plaquetária em apenas 36% dos animais doentes, sendo que destes animais, 72% deles estavam com mastocitoma de Alto Grau. Importante ressaltar que nenhum dos cães do GD apresentou petéquias ou equimoses evidentes; portanto, apesar da variação numérica na contagem plaquetária, é provável que esta alteração na hemostasia primária não seja clinicamente relevante, considerando, para isso, apenas os resultados da casuística deste trabalho. De qualquer forma, a associação entre um déficit na contagem total de plaquetas e o grupo SK1 pode ser explicada pelo surgimento de déficits metabólicos, nutricionais e pela presença de metástases em animais com tumores mais malignos.

O fibrinogênio mostrou ser uma variável praticamente inalterada pela presença do mastocitoma, considerando o número de animais estudados no grupo doente desta pesquisa.

Este estudo mostrou a importância da realização de plaquetogramas e coagulogramas prévios a cirurgias de ressecção de mastocitomas cutâneos. Ainda são necessários trabalhos adicionais, que avaliem e associem o tamanho dos tumores, o tempo de aparecimento e a velocidade de crescimento dos mesmos com seu grau de malignidade. É importante que sejam realizadas novas pesquisas para detalhar o envolvimento da heparina em cada caso individual, uma vez que os tempos de coagulação parecem se alterar conforme a quantidade e a velocidade de liberação desta substância na circulação sistêmica.

2.4. Conclusões

Pode-se concluir que a contagem de plaquetas em cães com mastocitoma parece ser pouco alterada pela presença do tumor, acontecendo, principalmente, em animais com mastocitomas de Alto Grau. Quanto à hemostasia secundária, houve aumentos no TTPA e no TP em um número significativo de animais do GD (70% dos cães). Finalmente, os mastocitomas classificados em Alto Grau de malignidade apresentaram as maiores alterações na avaliação da hemostasia, tanto primária quanto secundária. Os mastocitomas de Baixo Grau mostraram poucas alterações nos valores hemostáticos, e nesta classificação de tumores, o TTPA, é que foi o parâmetro mais alterado.

2.5. Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and Molecular Immunology**, 4.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.235-267.

BERMAN, B.; ROSS, R. N. Systemic mastocytosis. **Cutis**, v.29, n.6a, p.544-555, 1982.

BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 1998.

BROSTOFF, J.; HALL, T. Hipersensibilidade – tipo 1. In: ROITT, I. M.; BROSTOFF, J.; MALE, D. K. **Imunologia**, 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. Cap. 19, p. 1-20.

CALVERT, C. A. Canine viral and transmissible neoplasm. In: GREENE, C. E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1984. p.469-475.

CHILDRESS, M.O. Hematologic abnormalities in the small animal cancer patient, **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.42, n.1, p.123–155, 2012.

CURRY A., JEZIORSKA, M., WOOLLEY, D. E. Evidence for in vivo mitosis by granule-containing mast cells from canine mastocytomas. **Virchows Archiv: Official Journal of the European Society of Pathology**, v.433, n.5, p.465-70, 1998.

GOLDSMITH, G. H. Hemostatic changes in patients with malignancy. **International Journal of Hematology**, v. 73, n. 2, p. 151-156, 2001.

HOTTENDORF, G.H; NIELSEN, S.W.; KENYON, A.J. Canine mastocytoma: I. Blood coagulation time in dogs with mastocytoma. **Veterinary Pathology**, v.2, p.129–141, 1965.

JAQUES, L. B. The reaction of heparin with proteins and complex bases. **Biochemical Journal**, v. 37, n. 2, p. 189-195, 1943.

LARSSON, B. Studies on canine mastocytoma. 1957. 24 f. Ed. Almqvist and Wiksells Boktryckeri. Uppsala, 1957.

LONDON, C. & SEGUIN, B. Mast Cell Tumors in the Dog. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 473-489, 2003.

MACY, D. W. Canine and feline mast cell tumors. In: KAL KAN SYMPOSIUM,10, 1986 **Proceedings**, Ohio, v. 1, n. 1, p. 101-111, 1986.

MACY, D. W. Canine mast cell tumors. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 15, n. 4, p. 783-803, 1985.

MASUDA, E. S.; SCHMITZ, J. Syk inhibitors as treatment for allergic rhinitis. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 23, n. 3, p. 461-467, 2008.

MERLO, E. M. Mastocitoma Cutâneo Canino: Un Reto Para El Veterinário. **Profesión Veterinaria**, ano 12, n. 47, 2000. Disponível em: <http://www.colvet.es/Madrid/revista/may_jun_00/casoclinico.htm>.

NADER, H. B.; PINHAL, E. S.; BAÚ, E. C. et al. Development of new heparin-like compounds and other antithrombotic drugs and their interaction with vascular endothelial cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 34, n. 6, p. 699-709, 2001.

O'KEEFE, D. A. Canine Mast Cell Tumors. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 20, n. 4, p. 1105-1115, 1990.

OLIVER, J; BLOOM, F; and MANGIERIC, C. On the origin of heparin: an examination of the heparin content and the specific cytoplasmic particles of neoplastic mast cells. **The Journal of Experimental Medicine**. v. 86; n. 2, p. 107-116, 1947.

OLSSON, P. Effect of intravenous injection of heparin in varying and repeated doses on the

coagulation time. An experimental study on dogs. **Acta Medica Scandinavica**. v. 174, n. 3, p. 281-288, 1963.

PAFF, G. H. and BLOOM, F. Vacuolation and the release of heparin in mast cells cultivated in vitro. **The Anatomic Record**, v. 104, n. 1, p. 45-59, 1949.

ROGERS, K. S. Mast Cell Tumors Dilemmas os Diagnosis and Treatment. The **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 26, n. 1, p.87-102, 1996.

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

TAMS, T. R.; MACY, D. W. Canine mast cell tumors. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 3, n. 10, p. 869-877, 1981.

VAN PELT, D. R.; FOWLER, J. D.; LEIGHTON, F. A. Multiple Cutaneous Mast Cell Tumors in a Dog: A Case Report and Brief Review. **The Canadian Veterinary Journal**. v. 27 n. 7, p. 259–263, 1986.