

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU**

**AMANDA PAULINO CRESCENCIO**

**RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS E  
PERITONEAIS DE DÍMEROS-D E AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E  
LABORATORIAIS DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA**

**BOTUCATU – SP**

**2017**

**AMANDA PAULINO CRESCENCIO**

**RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS E  
PERITONEAIS DE DíMEROS-D E AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E  
LABORATORIAIS DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA**

Dissertação apresentada junto ao programa de  
Pós-Graduação em Biotecnologia Animal para  
obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Marcos Jun Watanabe

**BOTUCATU – SP**

**2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Crescencio, Amanda Paulino.

Relação entre as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-d e as variáveis clínicas e laboratoriais de equinos com síndrome cólica / Amanda Paulino Crescencio. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Marcos Jun Watanabe

Coorientador: Carlos Alberto Hussni

Capes: 50501003

1. Equino - Doenças. 2. Dímeros. 3. Fibrinólise. 4. Trombofilia. 5. Diagnóstico. 6. Prognóstico.

Palavras-chave: Diagnóstico; Dímero-d; Fibrinólise; Hipercoagulabilidade; Prognóstico.

**Nome do autor:** Amanda Paulino Crescencio

**Título: RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS E PERITONEAIS DE DÍMEROS-D E AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA**

### **COMISSÃO EXAMINADORA**

Professor **Marcos Jun Watanabe**

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Professora **Juliana de Moura Alonso**

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Professora **Paula Alessandra Di Filippo**

Membro

Departamento do Laboratório de Clínica e Cirurgia Animal

UENF – Rio de Janeiro

Data de defesa: 26 de setembro de 2017

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Edilene e Paulo, que já abdicaram de tantas coisas em favor da minha formação, e contribuíram muito para que eu pudesse evoluir.

Aos meus avós Cleide e Armando (em memória), e bisavó Assunta (em memória), que me deram grandes exemplos de virtudes como polidez, generosidade, humildade, doçura e sabedoria.

Aos meus professores de inglês Alini e Ernesto, que me ajudaram a superar as dificuldades que eu tinha nessa área que é muito importante.

Ao médico Dr. Tarcisio, que apenas com a homeopatia e o bom humor, conseguiu curar boa parte dos meus males, do corpo e da mente, da forma mais simples e eficaz possível.

Aos trabalhadores Nali, Malu e Ciça, como representantes de todos os membros do Centro Espírita Fraternidade, que me deram um imenso auxílio espiritual nos momentos em que minha fé se abalou.

As minhas amigas Paula e Josi, que sem querer me ajudaram a relembrar o objetivo pelo qual decidi seguir a carreira de médica veterinária.

Aos meus animais Whisky, Bóris, Lindinha e Banzé (em memória), que são simplesmente uma das maiores alegrias da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Marcos Jun Watanabe, pela oportunidade em ter me aceito como sua orientada e pelos valiosos conselhos.

Ao professor Carlos Alberto Hussni, pelo apoio como co-orientador e por estar sempre disposto a dividir seus conhecimentos.

Aos professores titulares componentes da banca examinadora Juliana de Moura Alonso e Paula Alessandra Di Filippo, e aos suplentes Ana Liz Garcia Alvez e Aduino de Carvalho Rosas Filho, por aceitarem nosso convite e disponibilizarem seu tempo.

À funcionária do Serviço de Cirurgia de Grandes Animais Clotilde Gonçalves, por ser sempre tão prestativa e bem-humorada, tornando o ambiente de trabalho mais agradável.

Às pós-graduandas Juliana de Moura Alonso e Nayara Maria Gil Mazzante, por toda a ajuda, não somente nas questões acadêmicas, mas também pela amizade.

## EPIGRAFE

*Se (Traduzido por Guilherme de Almeida)*

*Se és capaz de manter a tua calma quando  
 Todo o mundo ao teu redor já a perdeu e te culpa;  
 De crer em ti quando estão todos duvidando,  
 E para esses no entanto achar uma desculpa;  
 Se és capaz de esperar sem te desesperares,  
 Ou, enganado, não mentir ao mentiroso,  
 Ou, sendo odiado, sempre ao ódio te esquivares,  
 E não parecer bom demais, nem pretensioso;  
 Se és capaz de pensar - sem que a isso só te atires,  
 De sonhar - sem fazer dos sonhos teus senhores.  
 Se encontrando a desgraça e o triunfo conseguires  
 Tratar da mesma forma a esses dois impostores;  
 Se és capaz de sofrer a dor de ver mudadas  
 Em armadilhas as verdades que disseste,  
 E as coisas, por que deste a vida, estraçalhadas,  
 E refazê-las com o bem pouco que te reste;  
 Se és capaz de arriscar numa única parada  
 Tudo quanto ganhaste em toda a tua vida,  
 E perder e, ao perder, sem nunca dizer nada,  
 Resignado, tornar ao ponto de partida;  
 De forçar coração, nervos, músculos, tudo  
 A dar seja o que for que neles ainda existe,  
 E a persistir assim quando, exaustos, contudo  
 Resta a vontade em ti que ainda ordena: "Persiste!";  
 Se és capaz de, entre a plebe, não te corromperes  
 E, entre reis, não perder a naturalidade,  
 E de amigos, quer bons, quer maus, te defenderes,  
 Se a todos podes ser de alguma utilidade,  
 E se és capaz de dar, segundo por segundo,  
 Ao minuto fatal todo o valor e brilho,  
 Tua é a terra com tudo o que existe no mundo  
 E o que mais - tu serás um homem, meu filho!*

Poema original "If" de Joseph Rudyard Kipling

## SUMÁRIO

RESUMO .....	08
ABSTRACT .....	10
1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA .....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	13
2.1 Distúrbios de coagulação na cólica equina .....	13
2.2 Hiper ou hipofibrinólise na coagulação intravascular disseminada .....	17
2.3 Formação dos dímeros-D a partir da fibrinólise .....	18
2.4 Importância dos dímeros-D no diagnóstico e prognóstico da cólica equina .....	20
2.5 Dímeros-D no líquido peritoneal .....	21
2.6 Relação dos dímeros-D com o tempo de evolução da cólica equina .....	23
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
4 ARTIGO CIENTÍFICO .....	27



CRESCENCIO, A.P. **Relação entre as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D e as variáveis clínicas e laboratoriais de equinos com síndrome cólica.** [Relation between plasma and peritoneal concentrations of D-dimers, lactate and glucose in horses with colic syndrome] – Botucatu 2017. 58 p. Tese (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

## **RESUMO**

Nos equinos, os distúrbios gastrointestinais (GI) são as causas mais comuns de problemas de coagulação, podendo gerar complicações fatais. Atualmente, uma das ferramentas mais sensíveis para avaliação da hipercoagulabilidade e hiperfibrinólise em cavalos é a determinação das concentrações de dímeros-D. Dessa forma, objetivou-se relacionar as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D com as variáveis clínicas (frequência cardíaca, frequência respiratória, cor das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, temperatura retal, grau de dor e tempo de evolução do quadro) e laboratoriais (hematócrito, proteína plasmática total, plaquetas, fibrinogênio e leucócitos sanguíneos, além de proteína, fibrinogênio, células nucleadas, bactérias e glicose no líquido peritoneal) de equinos com síndrome cólica e com o diagnóstico e prognóstico desses casos. Foram utilizados 86 equinos com idade mediana de 6,5 anos e com peso mediano de 400 Kg. Os animais foram submetidos ao exame clínico e coleta de amostras de sangue e líquido peritoneal (LP) na admissão. As concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D foram avaliadas através de um ensaio semiquantitativo de aglutinação em látex. Apesar das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D terem demonstrado um sentido biológico relacionado à gravidade dos casos de cólica na análise descritiva, isso não foi comprovado estatisticamente através da análise multivariada. Portanto, concluímos que a determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através da utilização de kits semiquantitativos de aglutinação em látex não teve sensibilidade para predição da gravidade e elucidação do diagnóstico e prognóstico de equinos com síndrome cólica, devendo ter seus resultados cuidadosamente interpretados pelo médico veterinário na rotina clínica. Mais estudos

são necessários para avaliar a utilidade da determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através de outros métodos laboratoriais.

**PALAVRAS CHAVE:** diagnóstico, fibrinólise, hipercoagulabilidade, prognóstico.

CRESCENCIO, A.P. **Relation between plasma and peritoneal concentrations of D-dimers and the clinical and laboratory variables of horses with colic syndrome.** [Relação entre as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D, lactato e glicose, em equinos com síndrome cólica] – Botucatu 2017. 58 p. Tese (Mestrado em Biotecnologia Animal) - Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

## **ABSTRACT**

In horses, gastrointestinal (GI) disorders are the most common cause of coagulation problems, which can lead to fatal complications. One of the most sensitive tools for assessing hypercoagulability and hyperfibrinolysis in horses is the determination of D-dimer concentrations. The aim of this study was to correlate the plasma and peritoneal D-dimer concentrations with the clinical variables (heart rate, respiratory rate, mucous membranes color, capillary filling time, rectal temperature, pain degree, and time frame evolution) (hematocrit, total plasma protein, platelets, fibrinogen and blood leukocytes, as well as protein, fibrinogen, nucleated cells, bacteria and glucose in the peritoneal fluid) of horses with colic syndrome and with the diagnosis and prognosis of these cases. A total of 86 horses with a median age of 6.5 years and with a median weight of 400 kg were used. The animals were submitted to clinical examination and collection of blood and peritoneal fluid (LP) samples at admission. Plasma and peritoneal concentrations of D-dimers were evaluated by a semi-quantitative latex agglutination assay. Although plasma and peritoneal concentrations of D-dimers demonstrated a biological significance related to the severity of colic cases in the descriptive analysis, this was not statistically demonstrated through multivariate analysis. Therefore, we concluded that the determination of plasma and peritoneal concentrations of D-dimers using semi-quantitative latex agglutination kits was not sensitive to prediction of severity and elucidation of the diagnosis and prognosis of horses with colic syndrome, and their results should be carefully interpreted by the veterinarian in the clinical routine. More studies are needed to evaluate the usefulness of determining plasma and peritoneal concentrations of D-dimers through other laboratory methods.

**KEY WORDS:** diagnosis, fibrinolysis, hypercoagulability, prognosis.

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A síndrome cólica é responsável por 20% dos internamentos hospitalares em equinos, sendo considerada a maior causa de óbito nessa espécie. Geralmente os casos agudos, que envolvem distúrbios gastrointestinais (GI) mais graves, necessitam de tratamento cirúrgico imediato. Porém, esse tipo de tratamento possui custo elevado e prognóstico reservado. Apesar dos avanços em relação aos métodos de diagnóstico, às técnicas anestésicas e cirúrgicas e ao acompanhamento intensivo no pós-operatório, a mortalidade permanece elevada (IHLEER *et al.*, 2004; DI FILIPPO, *et al.* 2009).

Em equinos, os distúrbios GI são as causas mais comuns de problemas de coagulação, e geralmente resultam em um estado de hipercoagulabilidade. As coagulopatias em cavalos podem levar a complicações graves, tais como tromboembolismo pulmonar ou coagulação intravascular disseminada (CID), que pode evoluir para uma coagulopatia de consumo. Ao avaliar os perfis hemostáticos em cavalos com cólica, os resultados confirmam que as coagulopatias nesses pacientes podem ser achados frequentes (MONREAL & CESARINI, 2009; CESARINI *et al.*, 2010; CESARINI *et al.*, 2014).

A intensidade da coagulopatia depende da gravidade e da duração da lesão GI, bem como do grau de resposta inflamatória individual frente ao evento estimulante, e está diretamente associada ao prognóstico. Os distúrbios que resultam em endotoxemia grave ou síndrome da resposta inflamatória sistêmica estão mais comumente associados com hipercoagulabilidade e CID. Por isso, os pacientes com distúrbios isquêmicos ou inflamatórios graves são os mais frequentemente afetados pelas coagulopatias e também são aqueles que possuem uma menor taxa de sobrevivência (CESARINI *et al.*, 2010; CESARINI *et al.*, 2014).

Dessa forma, a identificação de cavalos em risco para o desenvolvimento de coagulopatias é muito importante para melhorar a capacidade de gestão dos distúrbios GI, direcionando de maneira adequada as medidas de tratamento e de cuidados intensivos nesses pacientes (DOLENTE *et al.*, 2002; DALLAP *et al.*, 2003). Um diagnóstico correto é necessário para prever um prognóstico confiável, porém identificar o local exato e o tipo de lesão intestinal é muitas vezes difícil. Portanto, a utilização de marcadores que possam contribuir para a

determinação do prognóstico é útil na tomada das decisões terapêuticas (IHLEER *et al.*, 2004).

A determinação da concentração plasmática de dímeros-D tem sido considerada um dos testes mais sensíveis para avaliação da hipercoagulabilidade e hiperfibrinólise em cavalos, para o diagnóstico de doenças tromboembólicas e CID, e também para predição de mortalidade, podendo ser empregada após competições de resistência, durante distúrbios GI, em quadros de laminite e em potros sépticos. Os dímeros-D são fragmentos de degradação da fibrina reticulada liberados exclusivamente pela lise mediada por plasmina, assim sendo considerados indicadores específicos da fibrinólise, diferentemente dos FDPs, que são fragmentos liberados tanto pela degradação do fibrinogênio como da fibrina solúvel (DELGADO *et al.*, 2009a; CESARINI *et al.*, 2010).

Durante alguns anos, os produtos de degradação da fibrina (PDFs) foram usados para avaliar a ativação da fibrinólise em cavalos com cólica, mas sua sensibilidade foi considerada baixa. Por isso, a concentração de dímeros-D, tem sido objeto de pesquisa em equinos e um aumento acentuado desse marcador específico e sensível foi relacionado às doenças GI isquêmicas e inflamatórias (principalmente peritonite), sendo a determinação de suas concentrações útil para predição do prognóstico (WELCH *et al.*, 1992; CESARINI *et al.*, 2010).

É esperado que equinos acometidos por enfermidades GI que produzam mais danos na parede do intestino, tais como enfermidades inflamatórias e isquêmicas, sejam aqueles que induzam um maior aumento da formação de fibrina, por isso a mensuração das concentrações de dímeros-D no líquido peritoneal (LP) também tem sido considerada útil para estimar o nível da atividade de fibrinólise local em cavalos com cólica. Assim como no sangue, o aumento das concentrações de dímeros-D no LP também está relacionado a hiperfibrinólise, e subseqüentemente, ao aumento da formação de fibrina (hipercoagulação). Portanto ele pode ser considerado um marcador específico da atividade fibrinolítica e, subseqüentemente, da fibrinogênese peritoneal (MONREAL & CESARINI, 2009; ARGÜELLES *et al.*, 2015).

Dessa forma a utilização das concentrações de dímeros-D como um marcador do desenvolvimento de coagulopatias, possibilita que os veterinários elaborem um prognóstico mais preciso, permitindo uma melhor abordagem terapêutica, e conseqüentemente, a diminuição da mortalidade.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Distúrbios de coagulação na cólica equina

As enfermidades GI são consideradas as causas mais comuns de distúrbios de coagulação em cavalos, que geralmente se iniciam por um estado de hipercoagulabilidade, podem evoluir para CID, e mais raramente resultar em uma coagulopatia de consumo. Além disso, a ativação do sistema de coagulação pode desencadear outras complicações trombóticas graves, como o tromboembolismo pulmonar e a síndrome de falência múltipla de órgãos (CESARINI *et al.*, 2010; CESARINI *et al.*, 2014).

A avaliação dos perfis hemostáticos de cavalos com cólica confirma que as coagulopatias são achados frequentes. Em quadros menos graves e com menor comprometimento circulatório, como obstruções ou deslocamentos de cólon maior, a ativação do sistema de coagulação é leve a moderada, e pode ser compensada por uma ativação proporcional dos sistemas inibitórios de coagulação, de forma que não haja consequências hemostáticas significativas (MONREAL & CESARINI, 2009).

Já os quadros de gravidade intermediária, como a enterite aguda, podem produzir uma ativação do sistema de coagulação mais acentuada, que ao ser parcialmente compensada pelos sistemas inibitórios resulta na forma subclínica de CID. Quando esse quadro persiste ao longo do tempo, pode se desenvolver uma coagulopatia de consumo acentuada, com depleção de plaquetas, fatores de coagulação e inibidores da coagulação, podendo progredir para a forma de CID com sangramento, caracterizada por deficiência de coagulação e síndrome hemorrágica (MONREAL & CESARINI, 2009).

E por fim, nos quadros mais graves, como volvulus intestinais ou colite grave com endotoxemia, podem ocorrer estados de hipercoagulabilidade extremamente marcada em um curto período de tempo sem reação inibitória subsequente, onde a produção de fibrina e a formação de micro trombos com deposição em diferentes tecidos irá resultar no desenvolvimento da forma

de CID com falência múltipla de órgãos, que contribui para a alta taxa de mortalidade nesses casos (MONREAL & CESARINI, 2009).

A intensidade do processo de coagulopatia depende da gravidade e da duração da lesão GI, bem como do grau de resposta inflamatória individual frente ao evento estimulante, e está associada ao prognóstico. Por isso, os pacientes com distúrbios isquêmicos ou inflamatórios graves são os mais frequentemente afetados pelas coagulopatias e também são aqueles que possuem uma menor taxa de sobrevivência (CESARINI *et al.*, 2010; CESARINI *et al.*, 2014). A relação entre CID e inflamação já é bem consolidada, sabe-se que as citocinas inflamatórias desempenham um papel importante na regulação do fator tecidual, de inibidores de coagulação, e na ativação de várias células que participam do processo de hemostasia (STOKOL, 2012).

Apesar da CID subclínica não ser clinicamente evidente na maioria dos casos de cavalos com cólica, ela pode ser diagnosticada com base em parâmetros clínico-patológicos, quando pelo menos três dos testes do perfil de coagulação estão alterados, sendo que um deles pode ser a concentração de dímers-D. Dessa forma, a identificação de cavalos em risco para o desenvolvimento de coagulopatias é importante para melhorar a capacidade de gestão dos distúrbios GI, direcionando de maneira adequada as medidas de tratamento e de cuidados intensivos nesses pacientes (DOLENTE *et al.*, 2002; DALLAP *et al.*, 2003).

Em cavalos que apresentam uma suspeita de lesão isquêmica, como volvulus ou torção, uma rápida intervenção cirúrgica é fundamental para a remoção da causa inicial e o reestabelecimento do fluxo sanguíneo nas alças intestinais. Nesses pacientes a avaliação dos parâmetros de coagulação deve ser um componente fundamental de monitoramento para identificar possíveis coagulopatias e possibilitar um tratamento precoce, melhorando as taxas de sobrevivência (DOLENTE *et al.*, 2002; DALLAP *et al.*, 2003). Em um estudo realizado por Cotovio *et al.* (2007), onde a deposição de fibrina em diversos órgãos foi avaliada através de exame histopatológico post-mortem, apenas um dos oito cavalos (12,5%) que receberam terapia antitrombótica apresentou depósitos de fibrina, comparado com sete dos doze cavalos (58,3%) que não receberam esse tipo de tratamento.

De acordo com estudos prévios, a gravidade das coagulopatias em cavalos com cólica parece estar relacionada com o diagnóstico, sendo que, 32% de cavalos com colite e até 70% de cavalos com volvulus de cólon maior, foram relatados com o desenvolvimento de disfunção hemostática (DOLENTE *et al.*, 2002; DALLAP *et al.*, 2003). Além disso, ao ser realizado exame de necropsia em cavalos com doença GI, em 40% dos animais com lesões isquêmicas e inflamatórias foi encontrada extensa deposição de fibrina em diversos órgãos, enquanto que esse achado compatível com CID não foi observado nos animais com lesões obstrutivas simples (COTOVIO *et al.*, 2007).

A gravidade das coagulopatias também parece estar relacionada com o prognóstico. Um estudo realizado por Monreal *et al.* (2000), que avaliou o perfil hemostático (contagem de plaquetas, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina ativada, concentração de fibrinogênio, atividade de antitrombina III e concentração de PDFs) de cavalos com volvulus submetidos a cirurgia, demonstrou que os animais com 3 dos 6 parâmetros alterados tiveram uma permanência hospitalar prolongada e aqueles com 4 dos 6 parâmetros alterados foram mais propensos a ser sacrificados. Além disso, foi relatado em um estudo de cavalos com colite aguda que, os animais com CID concorrente tiveram 8 vezes mais chances de morrer em comparação com aqueles que não desenvolveram CID. Portanto, seu reconhecimento é importante para que seja realizado tratamento adequado e melhora na elaboração do prognóstico (DOLENTE *et al.*, 2002).

## **2.2 Hiper ou hipofibrinólise na coagulação intravascular disseminada**

A CID é caracterizada por um desequilíbrio hemostático severo, onde geralmente ocorre o aumento da atividade de coagulação e também da fibrinólise. Em seres humanos, o estado de hipercoagulabilidade pode estar associado a uma grande diversidade de afecções como trombose venosa profunda, infarto do miocárdio, leucemia aguda, doença hepática, pancreatite aguda, complicações obstétricas, vasculites, traumas, queimaduras, infecções graves e até mesmo rabdomiólise (BOISCLAIR *et al.*, 1990; ASAKURA, 2014).



Em cavalos a CID pode ocorrer não somente nos casos de doença GI aguda, mas também em outras afecções, como septicemia, neoplasias disseminadas e enteropatias com perda de proteína. Devido à possibilidade de diferentes origens do desenvolvimento da CID, diversos desequilíbrios podem resultar dela, inclusive com variados parâmetros hemostáticos alterados em cada caso (WELCH *et al.*, 1992; MONREAL *et al.*, 2000).

Por isso, segundo Monreal & Cesarini (2009) as disfunções de coagulação podem ser classificadas em dois processos de acordo com sua fisiopatologia: o estado de hipercoagulabilidade, onde ocorre a ativação excessiva do sistema de coagulação; e o estado de hipocoagulabilidade, onde após a depleção de diversos fatores devido ao consumo, ocorre uma ativação de coagulação deficiente. Apesar do estado de hipocoagulabilidade ser raramente observado em cavalos com sinais clínicos de desconforto abdominal, a forma com sangramento da CID pode ocorrer em casos de doença GI primária muito grave ou em casos de doença hepática. Asakura (2014) acredita que a hipercoagulabilidade seja um fator comum a todos os tipos de CID e que a classificação distinta entre elas deva ser baseada no grau de fibrinólise, que pode ser diminuída, aumentada ou equilibrada.

De acordo com essa classificação a CID com fibrinólise diminuída, observada geralmente na sepse, apresenta marcadores laboratoriais de fibrinólise (PDFs e dímeros-D) levemente aumentados e os distúrbios na microcirculação causados pelo acúmulo de micro trombos decorrente dessa inibição da fibrinólise secundária seriam responsáveis pela evolução dos quadros de falência múltipla de órgãos. Já a CID com fibrinólise aumentada apresentaria um grande aumento dos marcadores laboratoriais de fibrinólise e a dissolução dos trombos resultaria em sintomas de sangramento grave. Por fim, a forma de CID com fibrinólise equilibrada também apresentaria um aumento acentuado dos marcadores laboratoriais de fibrinólise, porém não se desenvolveriam os sintomas de complicações hemorrágicas ou de disfunção orgânica, o que poderia ser considerada a forma subclínica da CID (ASAKURA *et al.*, 1994; ASAKURA, 2014).

A fisiopatologia das coagulopatias em cavalos com cólica se inicia com a liberação de endotoxinas bacterianas, que são absorvidas pela parede intestinal desvitalizada devido a isquemia, podendo fazer com que o processo da CID seja

desencadeado. A endotoxemia provoca liberação de citocinas, que fazem com que ocorra a expressão intravascular do fator tecidual (tromboplastina), resultando na ativação generalizada da cascata de coagulação, na produção sistêmica de trombina, e no consumo de fatores de coagulação. Inicialmente, as endotoxinas inibem a fibrinólise sistêmica através da regulação positiva da expressão do fator inibidor do ativador do plasminogênio tecidual tipo 1. Porém, posteriormente, elas promovem a fibrinólise através da ativação das plasminas (COLLATOS *et al.*, 1995; STOKOL *et al.*, 2005).

Na sepse, grande quantidade de fator tecidual é produzida e as citocinas em conjunto com os lipopolissacarídeos inibem a expressão da trombomodulina, uma proteína anti-coagulatória do endotélio vascular, fazendo com que a ativação da coagulação seja muito acentuada. Apesar de uma ativação inicial da fibrinólise na tentativa de dissolver os micro trombos, a ação das citocinas e dos lipopolissacarídeos faz com que o fator inibidor do ativador do plasminogênio seja sobre-expresso no endotélio, suprimindo a fibrinólise. Numa fase posterior, concentrações elevadas de trombina resultam na produção de espessas cadeias de fibrina resistentes à lise e a ativação de carboxipeptidase, um inibidor da trombólise, contribui ainda mais com a inibição da fibrinólise (STOKOL, 2012; ASAKURA, 2014).

Dessa forma, apesar da CID ser associada com o aumento da atividade de fibrinólise em cavalos, os distúrbios GI agudos também poderiam levar a um quadro de CID com hipofibrinólise. Achados de Collatos *et al.* (1995) demonstraram que cavalos com cólica desenvolveram uma diminuição da atividade fibrinolítica, onde tanto a endotoxemia resultante da cólica como a resposta inflamatória de fase aguda resultante do estímulo cirúrgico foram relacionadas a essa diminuição. Portanto, seria possível supor que a CID aguda, como a observada nos casos graves de cólica, levaria a um desequilíbrio hemostático com hipofibrinólise, enquanto a CID subaguda levaria a um desequilíbrio com hiperfibrinólise (MONREAL *et al.*, 2000).

Uma diminuição da fibrinólise foi observada por Paloma *et al.* (1995) em coelhos com CID experimentalmente induzida por infusão de endotoxinas, e quadros semelhantes de hipofibrinólise ocorreram durante a CID em humanos, apesar do aumento de dímeros-D (marcador específico de fibrinólise) ter sido encontrado em alguns casos (ROCHA *et al.*, 1989). Em gatos com CID, as

concentrações de dímeros-D não costumam ser tão elevadas, sugerindo uma menor ativação da fibrinólise (STOKOL, 2012). Portanto, o aumento ou a normalidade dos dímeros-D na CID, como consequência de uma hiper ou hipofibrinólise, respectivamente, parecem estar relacionados à espécie envolvida e à fisiopatologia de cada doença primária responsável pelo desencadeamento de uma forma diferente de CID (ASAKURA *et al.*, 1994; MONREAL *et al.*, 2000).

Em modelos experimentais animais para o estudo da CID, a patogênese pode diferir muito, dependendo da substância indutora utilizada. Ao serem comparados modelos induzidos por lipopolissacarídeos ou fator tecidual, apesar do grau de ativação da coagulação semelhante, no primeiro uma fibrinólise diminuída pode ser demonstrada pelo aumento do fator inibidor do ativador de plasminogênio, além dos níveis apenas levemente alterados de dímeros-D, sendo que micro trombos são histopatologicamente fáceis de demonstrar e a disfunção orgânica é grave. Já no modelo induzido por fator tecidual os níveis levemente alterados do fator inibidor do ativador de plasminogênio e marcadamente aumentados de dímeros-D refletem uma ativação da fibrinólise aumentada, sendo que micro trombos são difíceis de serem observados e a hematúria geralmente ocorre como um sintoma de hemorragia. Dessa forma, os sintomas de sangramento estão mais relacionados ao grau de ativação fibrinolítica do que ao grau de coagulopatia de consumo, pois em ambos os modelos o grau de diminuição na contagem de plaquetas e fibrinogênio é semelhante, mas a taxa de sintomas de sangramento é elevada apenas no modelo de CID induzida por fator tecidual (ASAKURA, 2014).

### **2.3 Formação dos dímeros-D a partir da fibrinólise**

Atualmente, um dos testes mais úteis para avaliação da hipercoagulabilidade e hiperfibrinólise em cavalos é a determinação das concentrações de dímeros-D, que pode ser empregada após competições de resistência, durante distúrbios GI, em quadros de laminite e em potros sépticos. O aumento das concentrações de dímeros-D pode ocorrer como consequência da formação de

fibrina intra ou extra vascular, e também após traumas ou intervenções cirúrgicas (FEIGE *et al.*, 2003; DELGADO *et al.*, 2009a). Como sua liberação ocorre a partir da proteólise de fibrina reticulada, ele é considerado um bom indicador da fibrinólise, auxiliando no diagnóstico de doenças tromboembólicas, como trombose venosa profunda e CID subclínica, também em seres humanos (BOISCLAIR *et al.*, 1990; VOGEL *et al.*, 1996).

Os dímeros-D são considerados marcadores sensíveis da atividade fibrinolítica e, conseqüentemente, da atividade de coagulação, pois são fragmentos liberados exclusivamente pela lise de fibrina reticulada, mediada por plasmina, diferentemente dos PDFs, que são fragmentos liberados pela degradação tanto do fibrinogênio como da fibrina solúvel. Para que ocorra a formação dos dímeros-D, é necessário que um substrato de fibrinogênio sofra primeiramente a ação da trombina, para ser transformado em fibrina, e em seguida a fibrina sofra a ação da plasmina, para que seja degradada. Dessa forma qualquer aumento nas concentrações de dímeros-D está diretamente relacionado a um aumento na destruição de fibrina reticulada, secundário a um aumento na transformação da fibrina solúvel em coágulo (STOKOL, 2003; STOKOL *et al.*, 2005; DELGADO *et al.*, 2009a).

Da mesma forma, os dímeros-D no LP também podem ser considerados marcadores específicos da atividade fibrinolítica subseqüente ao processo de fibrinogênese. As células mesoteliais do peritônio participam da iniciação e da resolução dos processos inflamatórios através da secreção de vários imunomoduladores. Dessa forma, frente a um trauma visceral, elas desencadeiam uma resposta fisiológica onde ocorre a formação de fibrina intraperitoneal a fim de produzir uma matriz que abranja as células danificadas até que a regeneração ocorra. O início dessa atividade pró coagulante se dá principalmente pela liberação do fator inibidor da ativação do plasminogênio tecidual tipo 1, um inibidor da fibrinólise. Em contrapartida, esse processo é equilibrado pela liberação do fator ativador do plasminogênio tecidual, responsável pela destruição da fibrina acumulada, evitando a formação de aderências no trato gastrointestinal (TGI), e como resultado da atividade fibrinolítica os dímeros-D são liberados (DELGADO *et al.*, 2009a; ARGÜELLES *et al.*, 2015).

## 2.4 Importância dos dímeros-D no diagnóstico e prognóstico da cólica equina

Entre os ensaios comuns para avaliar a hemostasia em animais, podemos incluir: a contagem de plaquetas, o tempo de protrombina (TP), o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), a atividade de antitrombina (AT), a concentração de fibrinogênio, a concentração de PDFs, a concentração de dímeros-D, e o componente médio de plaquetas (CMP). Dentre estes, a concentração plasmática de dímeros-D tem sido considerada um dos testes mais sensíveis para o diagnóstico de doenças tromboembólicas e CID, além de um bom índice preditivo de mortalidade (STOKOL, 2003; CESARINI *et al.*, 2010).

Em cães, os dímeros-D são considerados marcadores sensíveis para o diagnóstico de CID e mais adequados para este fim do que os PDFs (STOKOL, 2003). Durante alguns anos, os PDFs foram usados para avaliar a ativação da fibrinólise em cavalos com cólica, mas sua sensibilidade é baixa. Por isso, a concentração de dímeros-D, tem sido atualmente muito pesquisada em equinos e um aumento acentuado desse marcador específico e sensível foi relacionado às doenças GI isquêmicas e inflamatórias (principalmente peritonite), sendo a determinação de suas concentrações no momento da admissão considerada como ajuda útil para prever o prognóstico (WELCH *et al.*, 1992; CESARINI *et al.*, 2010).

De acordo com diversos estudos anteriores, as variáveis que avaliam a função cardiovascular como frequência cardíaca (FC), hematócrito (Ht), cor das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, variáveis de hemogasometria (ácido-base) e concentração de lactato sanguíneo, podem ser considerados bons índices preditivos de prognóstico em casos de cólica em equinos (PARRY *et al.*, 1983a; REEVES *et al.*, 1989; FURR *et al.*, 1995). Os dímeros-D também podem ser considerados valiosos marcadores para a avaliação do estado cardiovascular, pois seus níveis aumentados indicam que uma quantidade excessiva de fibrina está sendo formada no interior dos vasos como resultado da CID, o que pode levar ao aumento de resistência do fluxo sanguíneo e diminuição da perfusão (IHLER *et al.*, 2004).

A detecção dos dímeros-D é realizada por métodos imunológicos que utilizam anticorpos monoclonais específicos, os quais não reagem cruzadamente com produtos de degradação de fibrinogênio ou fibrina solúvel. Esse processo pode ser realizado através de vários tipos de testes, como por exemplo ELISA, imunofiltração (IF), ensaio imunoturbidimétrico automatizado e ensaio com kit de aglutinação em látex. Este último tem sido considerado vantajoso devido sua maior disponibilidade, facilidade de uso, obtenção de resultados rápidos e possibilidade de utilização no local de atendimento do animal, o que o torna ainda mais interessante, já que pode ser realizado à campo. Porém, os kits são fabricados com anticorpos contra os dímeros-D de seres humanos, e nem todos eles reagem de forma cruzada contra os dímeros-D de espécies animais, de forma que não devem ser utilizados. Além disso, é preferível que um kit com resultados semi-quantitativos seja utilizado, ao invés dos kits com resultados qualitativos, pois a informação de uma concentração aproximada é mais útil ao diagnóstico e prognóstico do que apenas um resultado positivo ou negativo (STOKOL, 2003; STOKOL *et al.*, 2005).

Já que nos cavalos que sofrem de enfermidades GI, espera-se que os processos que produzam mais danos na parede do intestino, tais como enfermidades inflamatórias e isquêmicas, sejam aqueles que induzam um maior aumento da formação de fibrina, a mensuração das concentrações de dímeros-D no LP também tem sido considerada útil para estimar o nível da atividade de fibrinólise local em cavalos com cólica (MONREAL & CESARINI, 2009). Foi demonstrado por Delgado *et al.* (2009a) que cavalos com problemas inflamatórios e isquêmicos apresentaram maior atividade fibrinolítica peritoneal, e que aqueles que possuem o LP alterado (transudato modificado e exsudato) têm concentrações significativamente mais elevadas de dímeros-D do que aqueles com o LP normal (transudato).

## **2.5 Dímeros-D no líquido peritoneal**

A análise do LP, que geralmente inclui avaliação do aspecto macroscópico, contagem citológica e dosagem da concentração de proteína

total, é uma técnica muito útil e simples que contribui para o diagnóstico de enfermidades GI em cavalos com cólica, já que suas características refletem as condições da cavidade abdominal. Atualmente, as pesquisas objetivam avaliar a importância de outras variáveis que podem ser determinadas no LP (DELGADO *et al.*, 2009b). Tanto em equinos como em bovinos, medições adicionais vêm sendo testadas para melhorar a determinação de um diagnóstico mais preciso e precoce, através da identificação de condições patológicas como: processos inflamatórios intra-abdominais (albumina, proteína C-reativa, fibrinogênio, dímeros-D), danos celulares (fosfatase alcalina, lactato desidrogenase, creatina-fosfoquinase), infecções bacterianas (glicose) e condições de isquemia intestinal (lactato, dímeros-D) (GROSCHE *et al.*, 2006; WITTEK *et al.*, 2010).

Em cavalos com cólica, principalmente nos quadros mais graves, onde ocorre lesão de parede intestinal, o equilíbrio entre a formação de fibrina (fibrinogênese) e sua degradação (fibrinólise) é alterado, podendo resultar em depósito excessivo de fibrina com conseqüente formação de aderências permanentes, responsáveis pela ocorrência de dor, obstrução intestinal e necessidade de realização de nova laparotomia. Considerando que um aumento da formação de fibrina intraperitoneal deveria ser acompanhado por um aumento proporcional da degradação dessa fibrina, os dímeros-D podem ser considerados marcadores úteis para a avaliação da atividade de fibrinólise peritoneal, ajudando a monitorar a gravidade do caso e o risco de complicações (DELGADO *et al.*, 2009a; DELGADO *et al.*, 2009b).

Em um estudo foi observado que a concentração peritoneal de dímeros-D foi significativamente maior em todos os grupos de cólica em comparação com o grupo controle e significativamente superior nos cavalos que sofriam de doenças GI graves (tais como enterite, peritonite, e lesões isquêmicas) quando comparados aos cavalos com obstrução simples de intestino grosso. A mediana da concentração peritoneal de dímeros-D nos cavalos do grupo controle foi de 36 ng/ml, significativamente menor que a mediana dos cavalos com obstruções de cólon (2.022 ng/ml), enterite (8.028 ng/ml), lesões isquêmicas (16.181 ng/ml) e peritonite grave (24.301 ng/ml) (DELGADO *et al.*, 2009a).

Além disso, as concentrações de dímeros-D no LP dos cavalos do grupo controle eram muito mais baixas do que as concentrações observadas no

plasma, ao passo que nos cavalos dos grupos de cólica a concentração plasmática permaneceu significativamente inferior à concentração peritoneal, o que demonstra que o processo de coagulopatia observado na cavidade abdominal (aumento das atividades de coagulação e fibrinólise) é totalmente independente das mudanças na coagulação e fibrinólise que ocorrem no sangue (DELGADO *et al.*, 2009a).

## **2.6 Relação dos dímeros-D com o tempo de evolução da cólica equina**

Como os cavalos costumam ser encaminhados ao hospital veterinário com diferentes tempos de evolução, a avaliação dos parâmetros de coagulação no momento da admissão pode nem sempre estar alterada, principalmente nos casos de início recente. A maioria dos estudos a respeito das mensurações de concentração de dímeros-D apresentam dados sobre a alteração desse parâmetro no momento da admissão, porém alguns estudos relataram que as alterações frequentemente tornam-se evidentes apenas após 24-72 horas de hospitalização, e continuam ocorrendo nos dias que se seguem, aumentando nos primeiros dias de internamento ou após a cirurgia, e geralmente, voltando aos intervalos de referência até o momento da alta (dentro de 4 a 6 dias nos pacientes sobreviventes (FEIGE *et al.*, 2003; CESARINI *et al.*, 2014).

Devido ao fato de que as alterações em alguns casos ocorrem no pós-operatório, evidências indiretas sugerem que a cirurgia possa resultar em uma acentuada ativação do sistema de coagulação (COLLATOS *et al.*, 1995). Apesar da ativação primária da coagulação ser atribuída ao processo de doença GI, as alterações no perfil de coagulação podem ser agravadas como resultado de uma reação de fase aguda, e foram demonstradas como uma possível consequência de trauma cirúrgico não só em equinos, como também em seres humanos (VOGEL *et al.*, 1996; FEIGE *et al.*, 2003).



### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGÜELLES, D.; DELGADO, M. A.; ARMENGOU, L.; CARMONA, J. U.; PRADES, M. Relationship between plasma and peritoneal fluid concentration of D-dimer and Transforming Growth Factor Beta 1 in horses with colic. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, n. 8, p. 629-635, ago. 2015.

ASAKURA, H. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models. **Journal of Intensive Care**, v. 2, n. 20, p. 1-7, mar. 2014. Disponível em: < <http://www.jintensivecare.com/content/2/1/20> > Acesso em 8 dez. 2016.

ASAKURA, H.; JOKAJI, H.; SAITO, M.; UOTANI, C.; KUMAHASHIRI, I.; MORISHITA, E.; YAMAMKI, M.; AOSHIMA, K.; MATSUDA, T. Study of the balance between coagulation and fibrinolysis in disseminated intravascular coagulation using molecular markers. **Blood Coagulation & Fibrinolysis**, v. 5, n. 5, p. 829-832, out. 1994.

BOISCLAIR, M.D.; LANE, D. A.; WILDE, J. T.; IRELAND, H.; PRESTON, F. E.; OFOSU, F. A. A comparative evaluation of assays for markers of activated coagulation and/or fibrinolysis: thrombin-antithrombin complex, D-dimer and fibrinogen/fibrin fragment E antigen. **British Journal of Hematology**, v. 74, n. 4, p. 471-479, abr. 1990.

CESARINI, C.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; DELGADO, M. A.; RIOS, J.; JOSE-CUNILLERAS, E. Association of admission plasma D-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 6, p. 1490-1497, nov/dez. 2010.

CESARINI, C.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; DELGADO, M. A.; RIOS, J.; JOSE-CUNILLERAS, E. Progression of plasma D-dimer concentration and coagulopathies during hospitalization in horses with colic. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 24, n. 6, p. 672-680, nov/dez. 2014.

COLLATOS, C.; BARTON, M. H.; MOORE, J. N. Fibrinolytic activity in plasma from horses with gastrointestinal diseases: changes associated with diagnosis, surgery, and outcome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 9, n. 1, p. 18-23, jan/fev. 1995.

COTOVIO, M.; MONREAL, L.; NAVARRO, M.; SEGURA, D.; PRADA, J.; ALVES A. Detection of fibrina deposits in tissues from horses with severe gastrointestinal disorders. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, n. 2, p. 308-313, mar/abr. 2007.

DALLAP, B. L.; DOLENTE, B.; BOSTON, R. Coagulation prolifes in 27 horses with large colon volvulus. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 13, n. 4, p. 215-225, dez. 2003.

DELGADO, M. A.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; RIOS, J.; SEGURA, D. Peritoneal D-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 4, p. 882-889, jul/ago. 2009a.

DELGADO, M. A.; MONREAL, L.; ARMENGOU, L.; SEGURA, D.; RIOS, J. Effects of blood contamination on peritoneal D-dimer concentration in horses with colic. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1232-1238, nov/dez. 2009b.

DI FILIPPO, P. A.; SANTANA, A. E.; NOGUEIRA, A. F. S.; ANAI, L. A.; CAMPOS FILHO, E. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, p. 1281-1289, dez. 2009.

DOLENTE, B. A.; WILKINS, P. A.; BOSTON, R. C. Clinicopathologic evidence of disseminated intravascular coagulation in horses with acute colitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 220, n. 7, p. 1034-1038, abr. 2002.

FEIGE, K.; KÄSTNER, S. B. R.; DEMPFLER, C. E.; BALESTRA, E. Changes in coagulation and markers of fibrinolysis in horses undergoing colic surgery. **Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**, v. 50, n. 1, p. 30-36, fev. 2003.

GROSCHKE, A.; SCHRÖDL, W.; SCHUSSER, G. F. Specific parameters in blood and peritoneal fluid to indicate the severity of intestinal ischemia in colic horses. **Tierärzti Prax**, v. 34, n. XX, p. 387-396, mês. 2006.

IHLER, C. F.; VENGER, J. L.; SKJERVE, E. Evaluation of clinical and laboratory variables as prognostic indicators in hospitalized gastrointestinal colic horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 45, n. xx, p. 109-118, jun. 2004.

MONREAL, I.; ANGLÉS, A.; ESPADA, Y.; MONREAL, M. Hypercoagulation and hypofibrinolysis in horses with colic and DIC. **Equine Veterinary Journal**, v.32, n. S32, p. 19-25, jun. 2000.

MONREAL, L.; CESARINI, C. Coagulopathies in horses with colic. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 25, n. 2, p. 247-258, ago. 2009.

PALOMA, M. J.; PÁRAMO, J. A.; ROCHA, E. Endotoxin-induced intravascular coagulation in rabbits: effect of tissue plasminogen activator vs urokinase on PAI generation, fibrina deposits and mortality. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 74, n. 6, p. 1578-1582, dez. 1995.

REEVES, M. J.; CURTIS, C. R.; SALMAN, M. D.; HILBERT, B. J. Prognosis in equine colic patients using multivariable analysis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 1, p. 87-94, jan. 1989.

ROCHA, E.; PÁRAMO, J. A.; PERNÁNDEZ, F. J.; CUESTA, B.; HERNÁNDEZ, M.; PALOMA, M. J.; RIFÓN, J. Clotting activation and impairment of fibrinolysis in malignancy. **Thrombosis Research**, v. 54, n. 6, p. 699-707, jun. 1989.

STOKOL, T. Laboratory diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs and cats: the past, the present, and the future. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 42, n. 1, p. 189-202, jan. 2012.

STOKOL, T. Plasma D-dimer for the diagnosis of thromboembolic disorders in dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 6, p. 1419-1435, nov. 2003.

STOKOL, T.; ERB, H. N.; WILDE, L. D.; TORNQUIST, S. J.; BROOKS, M. Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 4, p. 375-382, dez. 2005.

VOGEL, G.; DEMPFLER, C.; SPANNAGL, M.; LESKOPF, W. The value of quantitative monomer determination in the early diagnosis of postoperative deep vein thrombosis. **Thrombosis Research**, v. 81, n. 2, p. 241-251, jan. 1996.

WELCH, R. D.; WATKINS, J. P.; TAYLOR, T. S.; COHEN, N. D.; CARTER, G. K. Disseminated intravascular coagulation associated with colic in 23 horses (1984-1989). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 6, n. 1, p. 29-35, jan/fev. 1992.

WITTEK, T.; GROSCHE, A.; LOCHER, L. F.; FÜRLL, M. Diagnostic accuracy of D-dimer and other peritoneal fluid analysis measurements in dairy cows with peritonitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 5, p. 1211-1217, set/out. 2009.

## 4 ARTIGO CIENTÍFICO

**Revista escolhida:** Pesquisa Veterinária Brasileira

**Link das normas:** <http://www.pvb.com.br/?link=trabalho>

### **RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS E PERITONEAIS DE DÍMEROS-D E AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DE EQUINOS COM SÍNDROME CÓLICA**

Amanda P. Crescencio<sup>2</sup>, Juliana M. Alonso<sup>2</sup>, Marcos J. Watanabe<sup>2\*</sup>, Carlos A. Hussni<sup>2</sup>, Ana Liz G. Alvez<sup>2</sup>, Rodolfo S. Rossi<sup>3</sup>

**ABSTRACT.** - Crescencio A. P., Alonso J. M., Watanabe M. J. & Rossi R. S. 2017. **[Relation between blood and peritoneal concentrations of D-dimer and the clinical and laboratory variables of horses with colic syndrome.]** Correlação entre as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D, lactato e glicose, em equinos com síndrome cólica. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Enfermagem, Universidade do Estado de Santa Catarina, Rua Sete de Setembro 91D, Centro, Chapecó, SC 89801-140, Brazil. E-mail: [arnildo.korb@udesc.br](mailto:arnildo.korb@udesc.br)

In horses, gastrointestinal (GI) disorders are the most common cause of coagulation problems, which can lead to fatal complications. One of the most sensitive tools for assessing hypercoagulability and hyperfibrinolysis in horses is the determination of D-dimer concentrations. The aim of this study was to correlate the plasma and peritoneal D-dimer concentrations with the clinical variables (heart rate, respiratory rate, mucous membranes color, capillary filling time, rectal temperature, pain degree, and time frame evolution) (hematocrit, total plasma protein, platelets, fibrinogen and blood leukocytes, as well as protein, fibrinogen, nucleated cells, bacteria and glucose in the peritoneal fluid) of horses with colic syndrome and with the diagnosis and prognosis of these cases. A total of 86 horses with a median age of 6.5 years and with a median weight of 400 kg were used. The animals were submitted to clinical examination and collection of

blood and peritoneal fluid (LP) samples at admission. Plasma and peritoneal concentrations of D-dimers were evaluated by a semi-quantitative latex agglutination assay. Although plasma and peritoneal concentrations of D-dimers demonstrated a biological significance related to the severity of colic cases in the descriptive analysis, this was not statistically demonstrated through multivariate analysis. Therefore, we concluded that the determination of plasma and peritoneal concentrations of D-dimers using semi-quantitative latex agglutination kits was not sensitive to prediction of severity and elucidation of the diagnosis and prognosis of horses with colic syndrome, and their results should be carefully interpreted by the veterinarian in the clinical routine. More studies are needed to evaluate the usefulness of determining plasma and peritoneal concentrations of D-dimers through other laboratory methods.

INDEX TERMS: diagnosis, fibrinolysis, hypercoagulability, prognosis.

<sup>1</sup> Recebido em .....

Aceito para publicação em .....

<sup>2</sup> Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade do Estado de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ - UNESP), Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Bairro UNESP Campus de Botucatu, Botucatu, SP 18618-681, Brasil. \*Autor para correspondência: [watanabe@fmvz.unesp.br](mailto:watanabe@fmvz.unesp.br)

<sup>3</sup> Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade do Estado de São Paulo “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ - UNESP), Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n, Bairro UNESP Campus de Botucatu, Botucatu, SP 18618-681, Brasil.

**RESUMO.** - Nos equinos, os distúrbios gastrointestinais (GI) são as causas mais comuns de problemas de coagulação, podendo gerar complicações fatais. Atualmente, uma das ferramentas mais sensíveis para avaliação da hipercoagulabilidade e hiperfibrinólise em cavalos é a determinação das concentrações de dímeros-D. Dessa forma, objetivou-se relacionar as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D com as variáveis clínicas

(frequência cardíaca, frequência respiratória, cor das membranas mucosas, tempo de preenchimento capilar, temperatura retal, grau de dor e tempo de evolução do quadro) e laboratoriais (hematócrito, proteína plasmática total, plaquetas, fibrinogênio e leucócitos sanguíneos, além de proteína, fibrinogênio, células nucleadas, bactérias e glicose no líquido peritoneal) de equinos com síndrome cólica e com o diagnóstico e prognóstico desses casos. Foram utilizados 86 equinos com idade mediana de 6,5 anos e com peso mediano de 400 Kg. Os animais foram submetidos ao exame clínico e coleta de amostras de sangue e líquido peritoneal (LP) na admissão. As concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D foram avaliadas através de um ensaio semiquantitativo de aglutinação em látex. Apesar das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D terem demonstrado um sentido biológico relacionado à gravidade dos casos de cólica na análise descritiva, isso não foi comprovado estatisticamente através da análise multivariada. Portanto, concluímos que a determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através da utilização de kits semiquantitativos de aglutinação em látex não teve sensibilidade para predição da gravidade e elucidação do diagnóstico e prognóstico de equinos com síndrome cólica, devendo ter seus resultados cuidadosamente interpretados pelo médico veterinário na rotina clínica. Mais estudos são necessários para avaliar a utilidade da determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através de outros métodos laboratoriais.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** diagnóstico, fibrinólise, hipercoagulabilidade, prognóstico.

## **INTRODUÇÃO**

Em equinos, os distúrbios GI são a causa mais comum de problemas de coagulação, e geralmente resultam em um estado de hipercoagulabilidade. As coagulopatias em cavalos podem levar a complicações tromboticas graves, tais como tromboembolismo pulmonar ou coagulação intravascular disseminada (CID), que pode evoluir para uma coagulopatia de consumo (Monreal & Cesarini 2009, Cesarini *et al.* 2010, Cesarini *et al.* 2014).

Dessa forma, a identificação de cavalos em risco para o desenvolvimento de coagulopatias é muito importante para melhorar a capacidade de gestão dos distúrbios GI, direcionando de maneira adequada as medidas de tratamento e de cuidados intensivos nesses pacientes (Dolente *et al.* 2002, Dallap *et al.* 2003). A identificação de marcadores que possam contribuir para a determinação do prognóstico é útil na tomada das decisões terapêuticas (Ihler *et al.* 2004).

A determinação da concentração plasmática de dímeros-D tem sido considerada um dos testes mais sensíveis para avaliação da hipercoagulabilidade e hiperfibrinólise em cavalos, para o diagnóstico de doenças tromboembólicas e CID, e também para predição de mortalidade, podendo ser empregada após competições de resistência, durante distúrbios GI, em quadros de laminite e em potros sépticos. Os dímeros-D são fragmentos de degradação da fibrina reticulada liberados exclusivamente pela lise mediada por plasmina, assim sendo considerados indicadores específicos da fibrinólise, diferentemente dos FDPs, que são fragmentos liberados tanto pela degradação do fibrinogênio como da fibrina solúvel (Delgado *et al.* 2009, Cesarini *et al.* 2010).

É esperado que equinos acometidos por enfermidades GI que produzam mais danos na parede do intestino, tais como enfermidades inflamatórias e isquêmicas, sejam aqueles que induzam um maior aumento da formação de fibrina, a mensuração das concentrações de dímeros-D no líquido peritoneal (LP) também tem sido considerada útil para estimar o nível da atividade de fibrinólise local em cavalos com cólica. Assim como no sangue, também no LP, o aumento das concentrações de dímeros-D está relacionado a hiperfibrinólise, e subsequentemente, ao aumento da formação de fibrina (hipercoagulação). Portanto ele pode ser considerado um marcador específico da atividade fibrinolítica e, subsequentemente, da fibrinogênese peritoneal (Monreal & Cesarini 2009, Argüelles *et al.* 2015).

Este estudo teve por objetivo relacionar as concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D com as variáveis clínicas e laboratoriais, diagnóstico e prognóstico de equinos com síndrome cólica.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais e grupos

Nesse estudo foram incluídos equinos com desconforto abdominal encaminhados para o Serviço de Cirurgia de Grandes Animais da FMVZ – UNESP – Botucatu, no período de outubro de 2013 a dezembro de 2016. Todos os animais foram submetidos ao protocolo de atendimento da equipe, com coleta de informações na anamnese, realização de exame admissional, assim como procedimentos de diagnóstico e tratamento. O diagnóstico foi baseado na história clínica, exame físico geral e específico do sistema digestório, achados de palpação retal e sondagem nasogástrica, resultados de exames complementares (hemograma, bioquímica sérica, análise do LP e ultrassonografia abdominal), além de achados de laparotomia exploratória e exame post-mortem. As informações coletadas referentes à identificação do animal, diagnóstico, tempo de evolução e desfecho de cada caso foram armazenadas em planilhas para posterior avaliação em conjunto com os resultados laboratoriais. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o número 84/2016.

Utilizando como base os estudos de Delgado (2009) e Cesarini (2014), os animais foram classificados em 6 grupos distintos de acordo com o diagnóstico: obstrutivo clínico, obstrutivo cirúrgico, isquêmico, inflamatório, peritonite e misto. O grupo obstrutivo clínico incluiu todos os casos de transtornos não-estranhulantes e não-inflamatórios do TGI, como sobrecarga gástrica e compactação intestinal, que foram resolvidos com terapia clínica, enquanto o grupo obstrutivo cirúrgico incluiu os casos que precisaram de cirurgia, como deslocamentos de cólon e compactações não responsivas ao tratamento clínico. O grupo isquêmico incluiu cavalos com lesões GI estrangulantes, como torção intestinal, encarceramento no forame epiplóico e intussuscepção. O grupo inflamatório incluiu cavalos com inflamação aguda do intestino delgado ou intestino grosso. Além disso os casos de sablose foram incluídos no grupo inflamatório, devido ao tipo de lesão que a areia causa na mucosa intestinal (Tennent-Brown *et al.* 2010, Cook & Hassel 2014). Os cavalos com gastrite também foram incluídos nesse grupo, apesar do grau muito mais leve de inflamação nesses casos, quando comparados com colites e enterites.



O grupo peritonite incluiu cavalos com peritonite de origem infecciosa, seja ela causada por rupturas gástricas ou intestinais, bem como por desvitalização do intestino, mas sem ruptura. O grupo misto incluiu cavalos com duas enfermidades de gravidade semelhante (como distúrbios isquêmicos e inflamatórios concomitantes) e cavalos com outras doenças concomitantes ao distúrbio gastrointestinal. Os animais também foram agrupados de acordo com o desfecho dos casos em sobreviventes e não sobreviventes (óbito natural ou eutanásia).

### **Exame clínico e coleta de dados**

O exame físico admissional incluiu os dados de frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória em movimentos por minuto (mpm), cor das membranas mucosas (rósea, pálida, ictérica, congesta ou toxêmica), tempo de preenchimento capilar (segundos), temperatura retal (°C), grau de dor (leve, moderada ou forte) e tempo aproximado de evolução do quadro até a chegada do animal ao hospital (horas), foram registrados. A identificação do animal (peso, idade, sexo e raça), as datas de internação e alta hospitalar, informações de diagnóstico (localização e natureza da lesão) e informações sobre a realização de cirurgia, foram coletadas a partir do prontuário de cada paciente. Os critérios para indicação cirúrgica foram: dor não responsiva ao tratamento; achados de palpação retal; líquido peritoneal indicativo de lesão estrangulante e achados ultrassonográficos.

### **Coleta e análise das amostras**

No momento da admissão, foi realizada tricotomia e antissepsia nos pontos de coleta das amostras. As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular utilizando um sistema de Vacutainer e as amostras de LP foram coletadas de forma asséptica, com uma agulha hipodérmica 40 X 12 mm, introduzida lentamente na linha média, na região mais ventral do abdômen. O sangue foi coletado em tubos com ácido etilenodiamino-tetracético (EDTA), para realização do hemograma e em tubos com citrato de sódio, para análise de dímeros-D. O LP foi coletado em tubos com EDTA e tubos sem anticoagulante para avaliação citológica e bioquímica, além de tubos com citrato de sódio para análise de dímeros-D.

Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue com EDTA e as amostras de LP com EDTA e tubos sem anticoagulante foram encaminhadas ao laboratório para a realização das análises de rotina através dos métodos convencionais. As amostras de sangue e de LP com citrato de sódio foram processadas em um prazo máximo de 30 minutos após a coleta, procedendo a centrifugação a 3.600 g durante 10 minutos. Duas alíquotas de sobrenadante de cada amostra foram pipetadas em eppendorfs devidamente identificados, que foram congelados a - 80°C até à análise, assim como nos estudos de Cesarini (2014) e Argüelles (2015).

As concentrações de dímeros-D das amostras de sangue e LP foram determinadas por um ensaio semi-quantitativo imunoturbidimétrico de aglutinação em látex (D-Di Test®, Diagnostica Stago S.A.S. - França), utilizando os reagentes do kit de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante.

### **Análise estatística**

Realizou-se inicialmente a análise descritiva das variáveis, teste de normalidade e análise de variância. Posteriormente, os dados das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D foram avaliados pelo teste de correlação de Pearson em caso de distribuição paramétrica dos dados, ou pelo teste de correlação de postos de Spearman quando houve distribuição não paramétrica. A análise estatística foi realizada através do software SAS® 9.4 e os resultados foram considerados significativos quando o valor P foi <0,05.

Como a análise de dímeros-D foi realizada através de um teste semi-quantitativo que não determina um valor específico para cada amostra, mas apenas classifica em qual faixa de diluição cada amostra se encontra, um escore para cada faixa de diluição foi atribuído às amostras para que os testes estatísticos pudessem ser realizados, de forma que as amostras classificadas na faixa de dímeros-D <0,5 µg/ml receberam o escore de 1, as amostras na faixa de 0,5 a 1,0 µg/ml receberam o escore de 2, as amostras na faixa de 1,0 a 2,0 µg/ml receberam o escore de 3, as amostras na faixa de 2,0 a 4,0 µg/ml receberam o escore de 4, as amostras na faixa de 4,0 a 8,0 µg/ml receberam o escore de 5, e as amostras na faixa de dímeros-D >8,0 µg/ml receberam o escore de 6. A partir daí foram realizadas análises quantitativas em modelos multivariados, onde apenas as co-variáveis significativamente correlacionadas

aos valores de dímeros-D plasmáticos ou peritoneais permaneceram no modelo final. Para melhor interpretação do significado biológico dos resultados e aplicabilidade destes na rotina prática, os dados foram divididos em dois modelos, sendo que um deles incluiu apenas as co-variáveis clínicas e o outro incluiu apenas as co-variáveis laboratoriais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Dados descritivos

Dentre os 86 equinos que participaram do estudo, 47 (54,7%) eram fêmeas e 39 (45,3%) eram machos, com idades entre 2 meses e 28 anos (mediana = 6,5 anos), e com pesos entre 45 e 571 Kg (mediana = 400 Kg). A distribuição de raças nessa população foi de 40 (46,5%) Quartos de milha, 14 (16,3%) Mestiços, 9 (10,5%) Mangalargas, 4 (4,7%) Pôneis, 3 (3,4%) Puro-sangue ingleses, 3 (3,4%) Brasileiros de hipismo, 3 (3,4%) Lusitanos, 3 (3,4%) Árabes e 7 (8,2%) cavalos de outras raças.

Do total de casos, 51 (59,3%) foram tratados clinicamente e 35 (40,7%) cirurgicamente. De acordo com o desfecho de cada caso, 49 (57%) cavalos receberam alta, sendo considerados sobreviventes, 19 (22,1%) vieram à óbito e 18 (20,9%) foram eutanasiados devido ao mau prognóstico, compondo 37 (43%) cavalos não sobreviventes. De acordo com o diagnóstico 27 (31,4%) cavalos foram classificados no grupo obstrutivo clínico, 8 (9,3%) no grupo obstrutivo cirúrgico, 11 (12,8%) no grupo isquêmico, 21 (24,4%) no grupo inflamatório, 9 (10,5%) no grupo peritonite e 10 (11,6%) no grupo misto.

Mais especificamente, o grupo obstrutivo clínico incluiu 16 casos de compactação de cólon maior, 7 casos de sobrecarga gástrica, 2 casos de compactação de cólon menor, 1 caso de compactação de ceco e 1 caso de ingestão de corpo estranho. O grupo obstrutivo cirúrgico incluiu 4 casos de deslocamento de cólon maior, 2 casos de compactação de íleo, 1 caso de obstrução por corpo estranho e 1 caso de fecalito em cólon menor. O grupo isquêmico incluiu 3 casos de torção do intestino grosso, 2 casos de torção do intestino delgado, 2 casos de encarceramento no forame epiplóico, 1 caso de lipoma estrangulante, 1 caso de intussuscepção, 1 caso de encarceramento nefro-esplênico e 1 caso de torção na base do ceco. O grupo inflamatório incluiu

8 casos de gastrite, 5 casos de sablose, 4 casos de enterocolite, 2 casos de enterite verminótica e 2 casos de grande formação de aderências. O grupo peritonite incluiu 4 casos de peritonite por ruptura intestinal, 4 casos de peritonite devido à causa desconhecida e 1 caso de peritonite por desvitalização do intestino devido à enterocolite. O grupo misto incluiu 1 caso de fecalito em cólon menor acompanhado por laminite, 1 caso de peritonite por tumor de útero, 1 caso de peritonite por funiculite, 1 caso de peritonite por abscesso no baço, 1 caso de torção da raiz mesentérica com peritonite por desvitalização de alça, 1 caso de lipoma estrangulante com peritonite por desvitalização de estô, 2 casos de torção de raiz mesentérica com ruptura de alça, 1 caso de torção de cólon com ruptura de alça e 1 caso de sobrecarga gástrica com ruptura de estômago.

Os cavalos foram classificados em 6 grupos de diagnóstico e de acordo com o desfecho de cada caso (Quadro 1), e a partir dos escores de 1 a 6 atribuídos às faixas de diluição de dímeros-D plasmáticos e peritoneais foram calculadas as médias dos escores dentro de cada grupo de diagnóstico (Quadro 2) e de acordo com o desfecho de cada caso (Quadro 3).

**Quadro 1. Número e porcentagem de cavalos com síndrome cólica (N = 86) classificados de acordo com o diagnóstico e o desfecho dos casos**

D	Diagnóstico						Total
	O. Clín.	O. Cir.	Isq.	Inf.	Per.	Mis.	
<b>S</b>	26 (30,2%)	5 (5,8%)	3 (3,5%)	13 (15,1%)	1 (1,2%)	1 (1,2%)	49 (57%)
<b>NS</b>	1 (1,2%)	3 (3,5%)	8 (9,3%)	8 (9,3%)	8 (9,3%)	9 (10,4%)	37 (43%)
<b>Total</b>	27 (31,4%)	8 (9,3%)	11 (12,8%)	21 (24,4%)	9 (10,5%)	10 (11,6%)	<b>86</b> <b>(100%)</b>

D = desfecho dos casos; S = sobreviventes; NS = não sobreviventes; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto

**Quadro 2. Média dos escores de dímeros-D plasmáticos de acordo com o diagnóstico e o desfecho dos casos**

<b>D</b>	<b>Diagnóstico</b>						<b>Total</b>
	O. Clín.	O. Cir.	Isq.	Inf.	Per.	Mis.	
<b>S</b>	1,3	1,0	1,3	1,6	3,0	1,0	1,5
<b>NS</b>	1,0	2,0	2,4	1,4	2,6	2,6	2,0
<b>Total</b>	1,2	1,5	1,9	1,5	2,8	1,8	<b>1,8</b>

D = desfecho dos casos; S = sobreviventes; NS = não sobreviventes; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto

**Quadro 3. Média dos escores de dímeros-D peritoneais de acordo com o diagnóstico e o desfecho dos casos**

<b>D</b>	<b>Diagnóstico</b>						<b>Total</b>
	O. Clín.	O. Cir.	Isq.	Inf.	Per.	Mis.	
<b>S</b>	1,6	1,0	1,0	1,3	6,0	1,0	2,0
<b>NS</b>	-	2,0	2,0	1,0	2,3	2,5	2,0
<b>Total</b>	1,6	1,5	1,5	1,2	4,2	1,8	<b>2,0</b>

D = desfecho dos casos; S = sobreviventes; NS = não sobreviventes; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto

Os cavalos também foram divididos de acordo com a análise do LP, em transudato (contagem de células <5.000 c/μl e PT <2,5 g/dl), transudato modificado (contagem de células <5.000 c/μl e PT >2,5 g/dl ou contagem de células >5.000 c/μl e PT <2,5 g/dl), e exsudato (contagem de células >5.000 c/μl e PT >2,5 g/dl) assim como no estudo de Argüelles *et. al.* (2015). O número e a porcentagem de cavalos foi calculada de acordo com o diagnóstico e o tipo de LP (Quadro 4), assim como a média dos escores de DDPer de acordo com o diagnóstico e o tipo de LP (Quadro 5).

**Quadro 4. Número e porcentagem de cavalos com síndrome cólica (N = 63) classificados de acordo com o diagnóstico e o tipo de líquido peritoneal**

LP	Diagnóstico						Total
	O. Clín.	O. Cir.	Isq.	Inf.	Per.	Mis.	
<b>T</b>	18 (28,6%)	2 (3,2%)	0 (0%)	11 (17,5%)	3 (4,8%)	0 (0%)	34 (54,0%)
<b>TM</b>	3 (4,8%)	1 (1,6%)	4 (6,4%)	5 (7,9%)	2 (3,1%)	2 (3,1%)	17 (27,0%)
<b>E</b>	0 (0%)	2 (3,1%)	2 (3,1%)	1 (1,6%)	4 (6,4%)	3 (4,8%)	12 (19,0%)
<b>Total</b>	21 (33,4%)	5 (7,9%)	6 (9,5%)	17 (27,0%)	9 (14,3%)	5 (7,9%)	63 (100%)

LP = líquido peritoneal; T = transudato; TM = transudato modificado; E = exsudato; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto

**Quadro 5. Média dos escores de dímeros-D peritoneais de acordo com o diagnóstico e o tipo de líquido peritoneal**

LP	Diagnóstico						Total
	O. Clín.	O. Cir.	Isq.	Inf.	Per.	Mis.	
<b>T</b>	1,6	1,0	-	1,2	2,0	-	1,5
<b>TM</b>	1,5	-	2,3	1,0	2,0	1,5	1,7
<b>E</b>	-	1,5	1,0	2,0	3,5	3,0	2,2
<b>Total</b>	1,6	1,3	1,7	1,4	2,5	2,3	1,8

LP = líquido peritoneal; T = transudato; TM = transudato modificado; E = exsudato; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto

Ao comparar os grupos de diagnóstico, podemos observar que os grupos obstrutivo clínico, obstrutivo cirúrgico e inflamatório possuem maior número de animais sobreviventes e uma média de DDPla menor, ao passo que os grupos isquêmico, peritonite e misto possuem mais animais não sobreviventes e uma média de DDPla maior. Isso sugere que a concentração plasmática de dímeros-D esteja relacionada ao tipo e à gravidade dos quadros de cólica, sendo que os quadros que envolvem lesões isquêmicas ou peritonite podem ser considerados mais graves e com um prognóstico mais desfavorável, o que está de acordo com os estudos de Delgado *et al.* (2009) e Cesarini *et al.* (2010).

Analisando especificamente o grupo inflamatório, que teve baixas médias de DDPla e DDPer, um maior número de animais sobreviventes e um maior

número de animais com o LP classificado como transudato, podemos concluir que esse grupo apresentou quadros de cólica que, no geral, podem ser considerados menos graves, achado que se contrapõe aos estudos de Argüelles *et al.* (2015) e Cesarini *et al.* (2010), onde o grupo inflamatório (que incluiu as enterites) foi classificado com maior gravidade. Isso pode ter ocorrido, pois no presente estudo, um terço dos animais desse grupo possuíam apenas gastrite, afecção que pode ser considerada como inflamatória, mas se manifesta de uma forma bem menos grave quando comparada às enterites.

Ao comparar as concentrações de DDPer entre os grupos de diagnóstico, podemos observar que apenas os grupos peritonite e misto apresentaram média de DDPer superior dos demais grupos, diferentemente do resultado descrito no estudo de Delgado *et al.* (2009), onde os grupos isquêmico e enterite também tiveram concentrações mais elevadas de DDPer. Além disso, foi determinado nos estudos de Monreal *et al.* (2000) e Dolente *et al.* (2002), que a gravidade das coagulopatias, que pode ser determinada indiretamente pela determinação das concentrações de dímeros-D, está relacionada a um mal prognóstico (maior chance de óbito). No presente estudo, a média de DDPer nos animais não sobreviventes é igual a média dos animais sobreviventes, diferentemente da média de DDPla, que é maior nos animais não sobreviventes. Isso sugere que a mensuração das concentrações de DDPer possa auxiliar no diagnóstico das complicações nos casos de cólica, mas talvez não tenha um valor prognóstico tão importante quanto a mensuração das concentrações de DDPla.

Em relação à classificação do tipo de LP, mais cavalos dos grupos obstrutivo clínico e inflamatório (quadros menos graves) tinham o LP classificado como transudato, sendo que mais cavalos dos grupos peritonite e misto (quadros mais graves) tinham o LP classificado como exsudato. Além disso, a média do DDPer foi maior nos cavalos que tiveram o LP classificado como exsudato do que naqueles que tiveram o LP classificado como transudato ou transudato modificado, diferentemente do resultado descrito no estudo de Delgado *et al.* (2009), onde os animais com LP classificado como transudato modificado também tiveram concentrações mais elevadas de DDPer. Dessa forma, podemos relacionar o aumento das concentrações de DDPer com a formação de exsudato que ocorre nos quadros mais graves de cólica.

Os dados da análise descritiva mostram da quantidade de animais com cada escore de dímeros-D plasmáticos e peritoneais classificados de acordo com as características dos casos de cólica (Quadros 6 e 7, respectivamente).

**Quadro 6. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com as características do caso e os escores de dímeros-D plasmáticos**

	DDPla						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>Diag.</b>							
O. Clin.	12	4	1	0	0	0	<b>17</b>
O. Cir.	5	0	0	1	0	0	<b>6</b>
Isq.	5	3	1	1	1	0	<b>11</b>
Inf.	11	4	2	0	0	0	<b>17</b>
Per.	2	2	3	1	1	0	<b>9</b>
Mis.	3	3	1	1	0	1	<b>9</b>
<b>Evol.</b>							
≤6	6	2	2	2	0	0	<b>12</b>
6-24	11	3	0	2	1	0	<b>17</b>
>24	14	7	4	0	1	0	<b>26</b>
<b>Desf.</b>							
S	27	8	3	0	0	0	<b>38</b>
NS	16	8	4	4	2	1	<b>35</b>

Diag. = diagnóstico; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto; Evol. = tempo de evolução do quadro até a admissão no hospital veterinário (horas); Desf. = desfecho dos casos; S = sobreviventes; NS = não sobreviventes; DDPla = dímeros-D plasmáticos



**Quadro 7. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com as características do caso e os escores de dímeros-D peritoneais**

	DDPer						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>Diag.</b>							
O. Clin.	12	4	1	0	1	0	<b>18</b>
O. Cir.	3	2	0	0	0	0	<b>5</b>
Isq.	4	1	2	0	0	0	<b>7</b>
Inf.	10	2	0	0	0	0	<b>12</b>
Per.	1	4	2	0	0	1	<b>8</b>
Mis.	1	3	0	1	0	0	<b>5</b>
<b>Evol.</b>							
≤6	3	3	2	0	0	0	<b>8</b>
6-24	7	3	2	1	0	0	<b>13</b>
>24	12	6	0	0	0	1	<b>19</b>
<b>Desf.</b>							
S	22	6	1	0	1	1	<b>31</b>
NS	9	10	5	1	0	0	<b>25</b>

Diag. = diagnóstico; O. Clín. = grupo obstrutivo clínico; O. Cir. = grupo obstrutivo cirúrgico; Isq. = grupo isquêmico; Inf. = grupo inflamatório; Per. = grupo peritonite; Mis. = grupo misto; Evol. = tempo de evolução do quadro até a admissão no hospital veterinário (horas); Desf. = desfecho dos casos; S = sobreviventes; NS = não sobreviventes; DDPer = dímeros-D peritoneais

Nesse estudo a maioria dos animais foram admitidos no hospital veterinário com um tempo de evolução do quadro de cólica mais prolongado (> 24 horas). Porém, nenhum animal com escore alto de DDPla ou DDPer foi admitido com um tempo de evolução curto (< 6 horas), enquanto que um animal com escore 5 de DDPla e um animal com escore 6 de DDPer foram admitidos com tempo de evolução > 24 horas. Isso está de acordo com os dados do estudo de Cesarini *et al.* (2014), que afirmam que o aumento das concentrações de dímeros-D ocorre gradativamente durante o período de internação, e que estas podem estar pouco alteradas no momento da admissão do animal no hospital veterinário, principalmente se esse animal tenha sido encaminhado rapidamente, logo no início do quadro de cólica.

Além disso, para descrição dos dados das co-variáveis clínicas, os quadros 8 e 9 mostram o número de animais com cada escore de dímeros-D plasmáticos e peritoneais, respectivamente, dentro de cada parâmetro do exame físico.

**Quadro 8. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com os parâmetros do exame físico e os escores de dímeros-D plasmáticos**

	DDPIa						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>FC</b>							
≤40	4	1	1	0	0	0	<b>6</b>
41-80	25	11	5	3	1	0	<b>45</b>
>80	6	3	2	1	1	1	<b>14</b>
<b>FR</b>							
≤24	20	5	3	3	0	0	<b>31</b>
>24	11	7	5	1	0	0	<b>24</b>
<b>Temp.</b>							
≤38,5	26	10	5	3	2	0	<b>46</b>
>38,5	4	4	3	1	0	0	<b>12</b>
<b>TPC</b>							
≤2	11	6	0	0	0	0	<b>17</b>
>2	21	9	8	4	2	1	<b>45</b>
<b>Muc.</b>							
R	14	6	2	1	0	0	<b>23</b>
P/I	7	4	0	2	1	0	<b>14</b>
C/T	11	4	6	1	1	1	<b>24</b>
<b>Dor</b>							
L	5	4	2	0	0	1	<b>12</b>
M	13	7	1	2	1	0	<b>24</b>
S	12	1	2	2	1	0	<b>18</b>

FC = frequência cardíaca (bpm); FR = frequência respiratória (mpm); Temp. = temperatura (°C); TPC = tempo de preenchimento capilar (segundos); Muc. = coloração das mucosas; R = róseas; P/I = pálidas ou ictéricas; C/T = congestas ou toxêmicas; L = leve; M = moderada; S = severa; DDPIa = dímeros-D plasmáticos

**Quadro 9. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com os parâmetros do exame físico e os escores de dímeros-D peritoneais**

	DDPer						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>FC</b>							
≤40	4	1	1	0	0	0	<b>6</b>
41-80	20	10	5	0	0	0	<b>46</b>
>80	5	4	0	1	0	1	<b>11</b>
<b>FR</b>							
≤24	15	8	2	0	0	0	<b>25</b>
>24	12	5	3	0	0	1	<b>21</b>
<b>Temp.</b>							
≤38,5	21	10	3	0	0	1	<b>35</b>
>38,5	5	3	2	0	0	0	<b>10</b>
<b>TPC</b>							
≤2	10	2	2	0	0	0	<b>14</b>
>2	18	13	3	1	0	1	<b>36</b>
<b>Muc.</b>							
R	12	4	2	0	0	1	<b>19</b>
P/I	9	2	3	0	0	0	<b>14</b>
C/T	7	9	0	0	0	0	<b>16</b>
<b>Dor</b>							
L	4	3	2	0	0	0	<b>9</b>
M	12	5	0	0	0	0	<b>17</b>
S	9	3	2	1	0	0	<b>15</b>

FC = frequência cardíaca (bpm); FR = frequência respiratória (mpm); Temp. = temperatura (°C); TPC = tempo de preenchimento capilar (segundos); Muc. = coloração das mucosas; R = róseas; P/I = pálidas ou ictéricas; C/T = congestas ou toxêmicas; L = leve; M = moderada; S = severa; DDPer = dímeros-D peritoneais

Nesse estudo a população de animais foi composta por uma maioria de adultos jovens (entre 3 e 8 anos de idade) e os animais apresentaram escores de dímeros-D plasmáticos e peritoneais distribuídos em todas as categorias de idade de forma equilibrada. Além disso, o maior escore de DDPla foi determinado em um animal da categoria de potros (< 2 anos), ao passo que o maior escore de DDPer foi determinado em um animal da categoria de idosos (> 14 anos). Isso sugere que o aumento das concentrações de dímeros-D, relacionado a gravidade do quadro, não possui influência da idade dos animais, o que contradiz os achados do estudo de Palareti *et al.* (2016), onde os valores de corte dos dímeros-D para o diagnóstico de tromboembolismo em humanos são maiores nos pacientes com idades mais elevadas.

Em relação aos parâmetros do exame físico, a maioria dos animais apresentou FC elevada e TPC aumentado, inclusive aqueles com escores baixos de DDPla e DDPer, o que confirma que o aumento desses parâmetros é inerente aos casos de cólica, devido ao próprio desconforto dos animais e ao possível comprometimento circulatório. Porém, o maior escore de DDPla foi determinado em um animal da categoria de FC >80 bpm e o maior escore de DDPer foi determinado em um animal dessa mesma categoria. Além disso, o maior escore de DDPla foi determinado em um animal que possuía TPC de 7 segundos devido a um quadro misto (isquêmico com ruptura). Isso corrobora com os achados de Ihler *et al.* (2004), de forma que podemos afirmar que o aumento acentuado das concentrações de dímeros-D esteja relacionado com os casos mais graves, onde ocorre um maior comprometimento cardiovascular do paciente.

O maior escore de DDPla foi determinado em um cavalo da categoria de mucosa congesta/toxêmica, o que indica que esse animal já apresentava alterações circulatórias significativas, enquanto que o maior escore de DDPer foi determinado em um cavalo da categoria de mucosa rósea e com TPC de 3 segundos (alterado, porém não tão elevado), o que indica que esse animal ainda não possuía alterações circulatórias tão significativas. Isso corrobora com os achados de Delgado *et al.* (2009) e Argüelles *et al.* (2015), que dizem que o aumento das concentrações de DDPla está mais relacionado às alterações sistêmicas, enquanto que o aumento das concentrações de DDPer está mais relacionado às alterações locais.

No estudo de Ihler *et al.* (2004), a dor foi relacionada apenas indiretamente o desfecho dos casos de cólica, concluindo que esse parâmetro do exame físico não possuía relação com a gravidade dos casos. Em contrapartida, em nosso estudo pudemos relacionar o aumento das concentrações de dímeros-D à gravidade dos casos de cólica através da avaliação da dor dos animais, pois aqueles que possuíam escores 4 e 5 de DDPla estavam classificados nas categorias de dor moderada e severa, e aqueles com escore 4 de DDPer estavam classificados na categoria de dor severa. Porém, o animal com escore 6 de DDPla estava classificado na categoria de dor leve, o que sugere uma possível perda de sensibilidade devido a desvitalização das alças em um quadro de cólica muito avançado.

Além disso, para descrição dos dados das co-variáveis laboratoriais o quadro 10 mostra o número de animais com cada escore de DDPla dentro de cada parâmetro do hemograma e o quadro 11 mostra o número de animais com cada escore de DDPer dentro de cada parâmetro da análise do LP. Para fins de comparação, o quadro 12 mostra a quantidade de animais classificados em cada escore de dímeros-D plasmáticos e peritoneais.

**Quadro 10. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com os parâmetros do hemograma e os escores de dímeros-D plasmáticos**

	DDPla						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>Ht</b>							
↓	11	2	1	2	0	0	<b>16</b>
N	25	13	5	1	2	0	<b>46</b>
↑	0	1	1	1	0	0	<b>3</b>
<b>PPT</b>							
↓	3	0	1	0	0	0	<b>4</b>
N	31	13	6	4	2	0	<b>56</b>
↑	2	0	3	0	0	0	<b>5</b>
<b>Plaq</b>							
↓	0	1	1	0	1	0	<b>3</b>
N	35	15	6	4	1	0	<b>60</b>
<b>Fbg</b>							
N	27	9	3	3	2	0	<b>44</b>
↑	7	7	4	1	0	0	<b>19</b>
<b>Leuc</b>							
↓	7	2	1	1	1	0	<b>12</b>
N	25	13	6	3	0	0	<b>47</b>
↑	4	1	0	0	1	0	<b>6</b>

Ht = hematócrito; PPT = proteína plasmática total; Plaq. = plaquetas; Fbg = fibrinogênio; Leuc. = leucócitos; ↓ = diminuído; N = normal; ↑ = aumentado; DDPla = dímeros-D plasmáticos

**Quadro 11. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com os parâmetros da análise do líquido peritoneal e os escores de dímeros-D peritoneais**

	DDPer						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>PLP</b>							
N	14	3	2	0	1	0	<b>20</b>
↑	15	10	4	1	0	1	<b>31</b>
<b>Fbg</b>							
N	20	8	4	0	0	1	<b>33</b>
↑	6	4	2	1	0	0	<b>13</b>
<b>Nucle</b>							
N	26	9	3	0	1	0	<b>39</b>
↑	3	4	3	1	0	1	<b>12</b>
<b>Bact</b>							
pos	0	5	2	1	0	0	<b>8</b>
neg	28	8	4	0	1	1	<b>42</b>
<b>Glic</b>							
neg	1	3	3	0	0	1	<b>8</b>
+	3	1	0	1	0	0	<b>5</b>
++	18	7	2	0	1	0	<b>28</b>
+++	6	2	1	0	0	0	<b>9</b>

PLP = proteína no líquido peritoneal; Fbg = fibrinogênio; Nucle = células nucleadas; Bact. = bactérias; Glic. = glicose; N = normal; ↑ = aumentado; pos = positivo; neg = negativo; + = até 50 mg/dl; ++ = até 100 mg/dl; +++ = até 300 mg/dl; DDPer = dímeros-D peritoneais

**Quadro 12. Número de cavalos com síndrome cólica classificados de acordo com os escores de dímeros-D plasmáticos e peritoneais**

	DDPla						Total
	1	2	3	4	5	6	
<b>DDPer</b>							
1	22	6	2	0	0	0	30
2	4	3	5	2	1	1	16
3	3	2	0	1	0	0	6
4	0	1	0	0	0	0	1
5	1	0	0	0	0	0	1
6	0	0	1	0	0	0	1
<b>Total</b>	30	12	8	3	1	1	<b>55</b>

DDPer = dímeros-D peritoneais; DDPla = dímeros-D plasmáticos

De acordo com os relatos de Delgado *et al.* (2009) e Monreal & Cesarini (2009), no presente estudo também pudemos observar que o aumento das concentrações de DDPla ocorre de forma independente ao aumento das

concentrações de DDPer, pois os animais que apresentaram escores mais elevados (4,5 e 6) de DDPla não foram os mesmos que apresentaram escores mais elevados (4,5 e 6) de DDPer.

### Dados analíticos do modelo clínico.

Como a distribuição dos valores de dímeros-D plasmáticos e peritoneais na população desse estudo é não paramétrica, os testes envolveram a correlação de Spearman e foram considerados os dados de mediana, mínimo e máximo das co-variáveis contínuas do modelo clínico de acordo com cada escore de dímeros-D plasmáticos e peritoneais (Quadros 13 e 14, respectivamente).

**Quadro 13. Mediana (mínimo – máximo) das co-variáveis clínicas de equinos com síndrome cólica (N = 86) de acordo com cada escore de dímeros-D plasmáticos**

DDPla	FC	FR	Temp.	TPC	Evol.
1	60 (32 – 120)	24 (12 – 60)	38,0 (36,5 – 39,0)	3 (2 – 4)	25 (2 – 240)
2	60 (40 – 124)	34 (16 – 60)	38,4 (37,3 – 40,5)	3 (2 – 5)	35 (4 – 96)
3	75 (40 – 128)	28 (16 – 48)	37,8 (37,0 – 40,1)	3 (3 – 5)	39 (3 – 72)
4	48 (48 – 52)	24 (20 – 24)	38,2 (37,6 – 38,9)	3 (3 – 3)	14 (6 – 24)
5	104 (104 – 104)	-	38,3 (38,3 – 38,3)	3 (3 – 3)	18 (18 – 18)
6	160 (160 – 160)	-	-	7 (7 – 7)	-

DDPla = dímeros-D plasmáticos; FC = frequência cardíaca (bpm); FR = frequência respiratória (mpm); Temp. = temperatura (°C); TPC = tempo de preenchimento capilar (segundos); Evol. = tempo de evolução do quadro até a admissão no hospital veterinário (horas)

**Quadro 14. Mediana (mínimo – máximo) das co-variáveis clínicas de equinos com síndrome cólica (N = 86) de acordo com cada escore de dímeros-D peritoneais**

DDPer	FC	FR	Temp.	TPC	Evol.
1	56 (32 – 124)	24 (12 – 60)	38,1 (37,0 – 39,1)	3 (2 – 4)	32 (2 – 240)
2	64 (40 – 160)	24 (12 – 48)	38,2 (37,0 – 40,1)	3 (2 – 7)	27 (3 – 96)
3	60 (40 – 80)	32 (12 – 36)	38,3 (36,5 – 40,5)	3 (2 – 3)	12 (4 – 22)
4	100 (100 – 100)	-	-	4 (4 – 4)	13 (13 – 13)
5	-	-	-	-	-
6	88 (88 – 88)	40 (40 – 40)	37,8 (37,8 – 37,8)	3 (3 – 3)	48 (48 – 48)

DDPer = dímeros-D peritoneais; FC = frequência cardíaca (bpm); FR = frequência respiratória (mpm); Temp. = temperatura (°C); TPC = tempo de preenchimento capilar (segundos); Evol. = tempo de evolução do quadro até a admissão no hospital veterinário (horas)

As medianas de FC e TPC foram mais elevadas no escore 6 de DDPla, enquanto que as medianas de FC e FR foram mais elevadas no escore 6 de DDPer. As medianas de FR e temperatura foram semelhantes entre os escores de DDPla, enquanto que as medianas de TPC e temperatura foram semelhantes entre os escores de DDPer. A partir daí podemos inferir que o aumento das concentrações de DDPla tenha maior relação com a gravidade dos distúrbios circulatórios sistêmicos, enquanto que o aumento das concentrações de DDPer tenha mais relação com alterações inflamatórias locais, que podem estar levando ao aumento da FC e FR principalmente por dor.

As medianas de tempo de evolução foram mais elevadas (>24 horas) nos escores do 1 ao 3 de DDPla e nos escores 1 e 2 de DDPer, confirmando que os casos mais graves têm um aumento maior das concentrações de dímeros-D em um tempo mais curto, assim como demonstraram os achados de Cesarini *et al.* (2010) e Cesarini *et al.* (2014). Além disso, o animal com escore 6 de DDPer também apresentou um tempo de evolução elevado, sugerindo que casos crônicos de peritonite podem manter altas concentrações de DDPer por um tempo mais prolongado.



Ao modelo clínico multivariado foram oferecidas todas as co-variáveis obtidas através da anamnese e exame clínico dos animais, que incluíram idade, sexo, tipo de tratamento, diagnóstico, desfecho, FC, FR, temperatura, TPC, coloração de mucosa, grau de dor e tempo de evolução, para que fossem analisadas em relação aos níveis de dímeros-D plasmáticos e peritoneais, classificados em escores de 1 a 6.

Após a primeira análise que incluiu todas as co-variáveis, aquelas que não possuíam significância foram excluídas do modelo e os testes foram repetidos até que restassem apenas as co-variáveis significativas. No final da análise as únicas co-variáveis clínicas que demonstraram relação estatisticamente significativa com o DDPla foram o sexo ( $P = 0,0003$ ) e o tempo de evolução ( $P = 0,0052$ ), ao passo que apenas a FR ( $P = 0,0269$ ) e o tempo de evolução ( $P = 0,0221$ ) demonstraram relação estatisticamente significativa com o DDPer.

Acredita-se que a relação do sexo com o aumento de DDPla possa ser falsa devido a provável influência de fatores de confusão que, coincidentemente estejam associados ao sexo nessa população de estudo. Porém, um estudo de Palareti *et al.* (2016), demonstrou que os valores de corte dos dímeros-D para o diagnóstico de tromboembolismo em humanos são maiores nas mulheres, sugerindo que haja uma relação com o sexo do paciente.

Os gráficos das figuras 1 e 2 representam as concentrações de DDPla significativamente diferentes entre as categorias de sexo e de tempo de evolução, respectivamente. Os gráficos das figuras 3 e 4 representam as concentrações de DDPer significativamente diferentes entre as categorias de frequência respiratória e tempo de evolução, respectivamente.

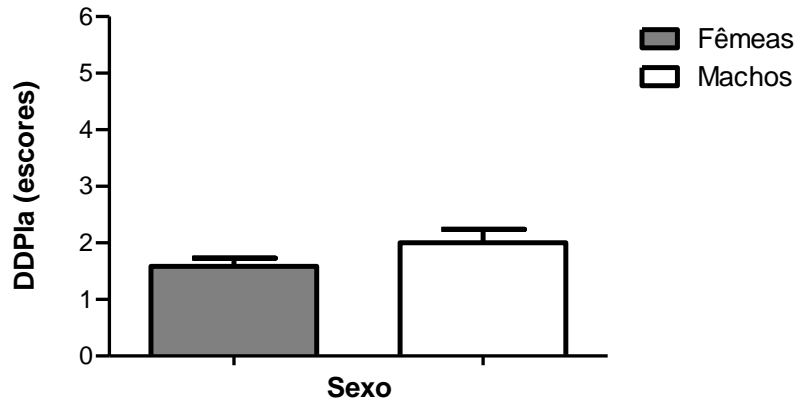


Fig. 1. Gráfico dos escores de dímeros-D plasmáticos nas categorias de sexo de equinos com síndrome cólica (N = 86)

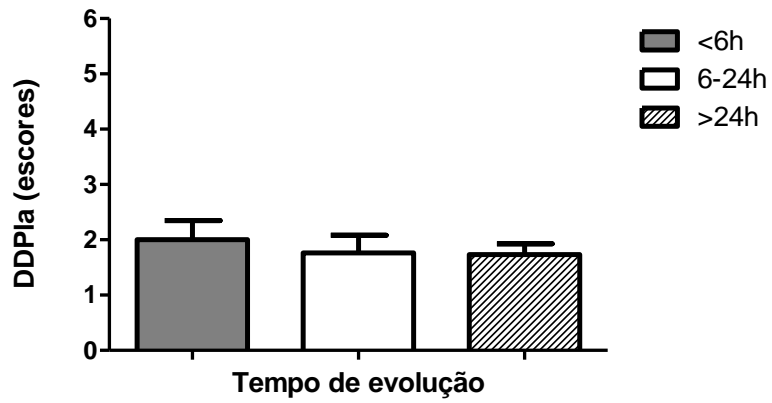


Fig. 2. Gráfico dos escores de dímeros-D plasmáticos nas categorias de tempo de evolução de equinos com síndrome cólica (N = 86)

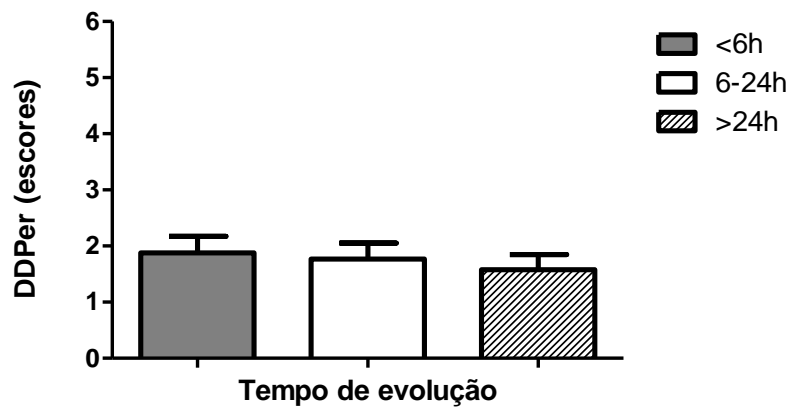


Fig. 3. Gráfico dos escores de dímeros-D peritoneais nas categorias de tempo de evolução de equinos com síndrome cólica (N = 63)

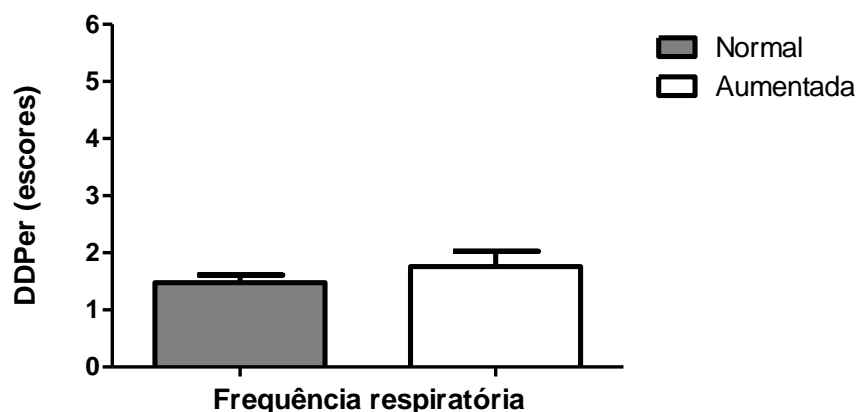


Fig. 4. Gráfico dos escores de dímeros-D peritoneais nas categorias de frequência respiratória de equinos com síndrome cólica (N = 63)

#### Dados analíticos do modelo laboratorial

Nesse modelo todos os testes também envolveram a correlação de Spearman e foram considerados os dados de mediana, mínimo e máximo das co-variáveis contínuas do hemograma de acordo com cada escore de DDPla (Quadro 15) e das co-variáveis contínuas do exame do LP de acordo com cada escore de DDPer (Quadro 16).

**Quadro 15. Mediana (mínimo – máximo) das co-variáveis do hemograma de equinos com síndrome cólica (N = 86) de acordo com cada escore de dímeros-D plasmáticos**

DDPla	Ht	PPT	Plaq.	Fbg	Leuc.
1	34 (23 – 47)	6,7 (4,0 – 8,6)	177 (101 – 240)	400 (200 – 600)	9,1 (3,7 – 25,5)
2	35 (21 – 50)	6,7 (6,2 – 9,4)	173 (76 – 288)	400 (400 – 1.600)	8,8 (2,3 – 21,4)
3	41 (31 – 55)	7,2 (2,6 – 7,6)	182 (60 – 242)	600 (200 – 1.000)	10,3 (2,0 – 13,1)
4	26 (25 – 52)	6,8 (6,6 – 7,2)	171 (152 – 255)	400 (400 – 600)	9,8 (4,7 – 10,6)
5	45 (45 – 45)	6,8 (6,8 – 6,8)	112 (112 – 112)	200 (200 – 200)	2,0 (2,0 – 2,0)
6	- -	- -	- -	- -	- -

DDPla = dímeros-D plasmáticos; Ht = hematócrito; PPT = proteína plasmática total; Plaq. = plaquetas ( $\times 10^3$ ); Fbg = fibrinogênio; Leuc. = leucócitos ( $\times 10^3$ )

**Quadro 16. Mediana (mínimo – máximo) das co-variáveis da análise do líquido peritoneal de equinos com síndrome cólica (N = 63) de acordo com cada escore de dímeros-D peritoneais**

<b>DDPer</b>	<b>PLP</b>	<b>Fbg</b>	<b>Nucle.</b>	<b>Glic.</b>
<b>1</b>	1,8 (0,1 – 7,6)	100 (100 – 600)	965 (92 – 44.050)	100 (0 – 300)
<b>2</b>	4,0 (0,1 – 6,4)	100 (100 – 400)	3.700 (70 – 22.850)	100 (0 – 300)
<b>3</b>	2,3 (0,5 – 5,8)	100 (100 – 200)	13.275 (324 – 162.870)	100 (0 – 100)
<b>4</b>	8,4 (8,4 – 8,4)	400 (400 – 400)	100.980 (100.980 – 100.980)	100 (100 – 100)
<b>5</b>	0,5 (0,5 – 0,5)	-	635 (635 – 635)	100 (100 – 100)
<b>6</b>	4,2 (4,2 – 4,2)	100 (100 – 100)	129.000 (129.000 – 129.000)	0 (0 – 0)

DDPer = dímeros-D peritoneais; PLP = proteínas no líquido peritoneal; Fbg = fibrinogênio; Nucle. = células nucleadas; Glic. = glicose (mg/dl)

Ao avaliar os dados laboratoriais, alguns animais tinham o Ht alterado, porém o animal com maior escore de DDPla demonstrou um valor de Ht dentro dos limites de referência. As medianas do Ht representaram valores normais em todos os escores de DDPla, exceto no escore 4, onde o valor foi abaixo do limite normal. Essa co-variável foi testada nos modelos multivariados iniciais como correlação linear, mas seu resultado foi negativo. Portanto concluímos que nessa população o Ht não teve relação com o aumento das concentrações de dímeros-D nem com a gravidade dos casos, o que contradiz os achados dos estudos de Reeves *et al.* (1989) e Ihler *et al.* (2004).

Quanto aos demais parâmetros avaliados no hemograma, não foi possível utilizá-los para supor uma relação do aumento das concentrações de DDPla com a gravidade dos quadros de cólica, pois a maioria dos animais apresentaram PPT, fibrinogênio, plaquetas e leucócitos normais, mesmo aqueles animais que possuíam escores elevados (4 ou 5) de DDPla. Mesmo assim, apesar das medianas de plaquetas e fibrinogênio do sangue em todos os escores de DDPla estarem dentro dos limites normais, nos animais com escore mais elevado (5), elas estão próximas ao limite inferior, o que pode representar uma depleção desses componentes devido a hipercoagulação seguida por hiperfibrinólise, nesses casos onde o aumento de DDPla estaria relacionado a um tipo de CID subclínica. Em contrapartida, nos animais com escores 2 e 3 de DDPla o

fibrinogênio do sangue está tendendo aos valores aumentados, demonstrando que houve hipercoagulação, mas ainda não houve hiperfibrinólise, o que poderia acontecer em quadros mais agudos ou na sepse, segundo Monreal *et al.* (2000) e Asakura (2014).

Os valores de PLP e células nucleadas no LP tendem a estar aumentados nos escores de DDPer a partir de 2 (considerado acima do normal), o que indica que o aumento nas concentrações de DDPer está relacionado as alterações que ocorrem no LP que se transforma em transudato modificado ou em exsudato, nos quadros mais graves como as peritonites. Além disso, os valores de fibrinogênio e glicose no LP são menores no escore 6 de DDPer, confirmando que a hiperfibrinólise local também ocorre como consequência do aumento da formação de fibrina peritoneal, assim como descreve o estudo de Delgado *et al.* (2009), e que os quadros com diminuição da glicose podem ser mais graves pelo envolvimento bacteriano, que causa o consumo da glicose no LP, segundo Wittek *et al.* (2010).

Em relação à peritonite séptica, a maioria dos animais não apresentou bactérias no LP, inclusive aqueles com escores 5 e 6 de DDPer. Além disso, a maioria dos animais possuía glicose ++ (de 100 a 300 mg/dl), porém o animal com escore 6 de DDPer possuía glicose negativa no LP, apesar de bactérias não terem sido observadas no exame. Isso abre uma margem de dúvida se o aumento da concentração de DDPer pode estar ou não relacionado com a diminuição de glicose que ocorre nos quadros de peritonite séptica devido ao consumo pelas bactérias.

Ao modelo laboratorial multivariado foram oferecidas todas co-variáveis obtidas através do hemograma e do exame do LP, que incluíram Ht, PPT, fibrinogênio sanguíneo, plaquetas e leucócitos no sangue, tipo de LP, cor e aspecto do LP, PLP, fibrinogênio, glicose, bactérias e células nucleadas no LP, para que fossem analisadas em relação aos níveis de dímeros-D plasmáticos e peritoneais, classificados em escores de 1 a 6.

Assim como no modelo clínico, todas as co-variáveis foram testadas e aquelas que não possuíam significância foram excluídas até que restassem apenas as co-variáveis com valor P significativo. No final da análise as únicas co-variáveis laboratoriais que demonstraram relação estatisticamente significativa com o DDPla foram as plaquetas do sangue ( $P = 0,03$ ) e as bactérias

do LP ( $P = 0,0007$ ), ao passo que apenas o fibrinogênio do LP ( $P = 0,0324$ ) e as células nucleadas do LP ( $P = <0,0001$ ) demonstraram relação estatisticamente significativa com o DDPer.

Apesar do fibrinogênio do LP ter sido significativo para o modelo final, o pós teste de Tukey não demonstrou significância nas diferenças dos valores entre as categorias dessa co-variável. Os gráficos das figuras 5 e 6 representam as médias de DDPla significativamente diferentes entre as categorias de plaquetas do sangue e bactérias do LP. Os gráficos das figuras 7 e 8 representam as médias de DDPer significativamente diferentes entre as categorias de células nucleadas do LP e o fibrinogênio do LP.

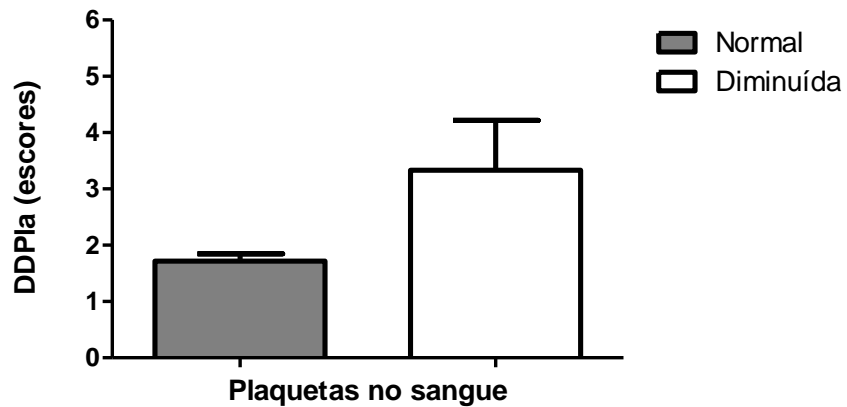


Fig. 5. Gráfico dos escores de dímeros-D plasmáticos nas categorias de plaquetas no sangue de equinos com síndrome cólica (N = 86)

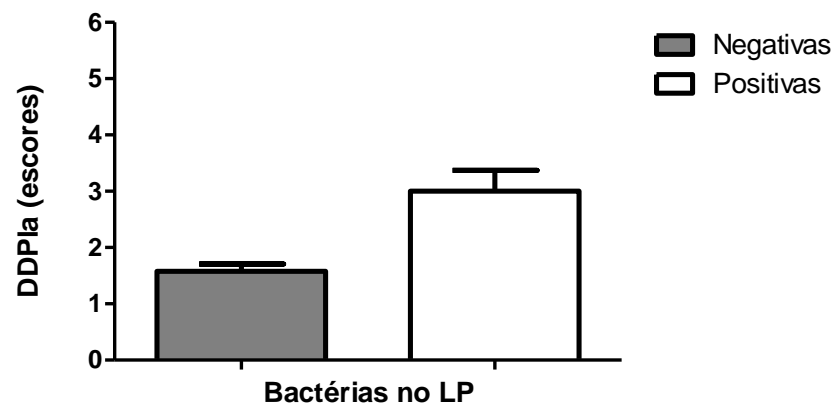


Fig. 6. Gráfico dos escores de dímeros-D plasmáticos nas categorias de bactérias no LP de equinos com síndrome cólica (N = 86)

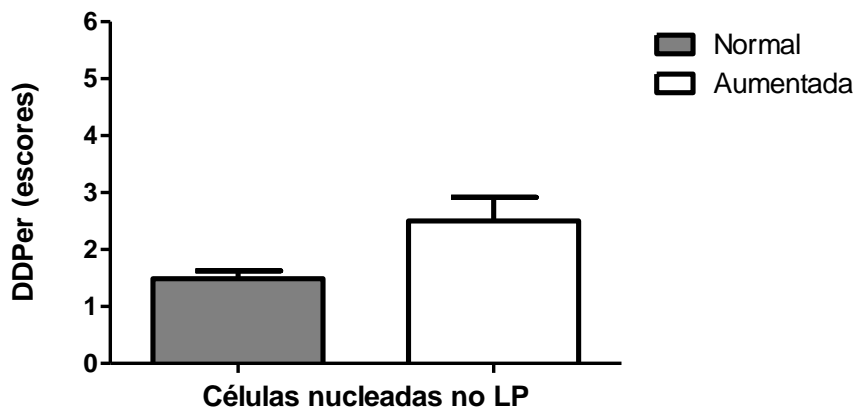


Fig. 7. Gráfico dos escores de dímeros-D peritoneais nas categorias de células nucleadas no LP de equinos com síndrome cólica (N = 63)

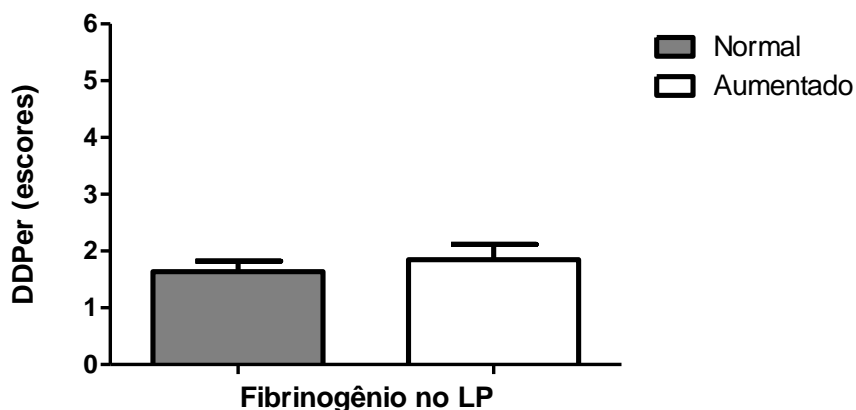


Fig. 8. Gráfico dos escores de dímeros-D peritoneais nas categorias de fibrinogênio no LP de equinos com síndrome cólica (N = 63)

Apesar de todas as inferências baseadas nas estatísticas descritivas e na comparação das medianas das categorias de cada co-variável, no modelo clínico multivariado final, apenas sexo e tempo de evolução foram considerados significativos em relação ao DDPla, enquanto que apenas FR e tempo de evolução foram considerados significativos em relação ao DDPer. Já no modelo laboratorial multivariado final, apenas plaquetas do sangue e bactérias do LP foram considerados significativos em relação ao DDPla, enquanto que apenas fibrinogênio e células nucleadas do LP foram considerados significativos em relação ao DDPer. Isso pode ter ocorrido devido ao baixo número de animais com escores elevados de dímeros-D plasmáticos e peritoneais e ao baixo

número de animais em algumas categorias das co-variáveis, o que diminui o poder estatístico dos testes para comprovar a relação dos parâmetros que indicam a gravidade do caso com o aumento das concentrações de dímeros-D.

Por fim, ao analisar as duas variáveis-resposta, obteve-se que o DDPla e o DDPer possuem uma correlação moderada com coeficiente  $r = 0,4034$  e valor  $P = 0,0023$ . O gráfico da figura 9 representa a correlação linear do dímeros-D plasmáticos e peritoneais.

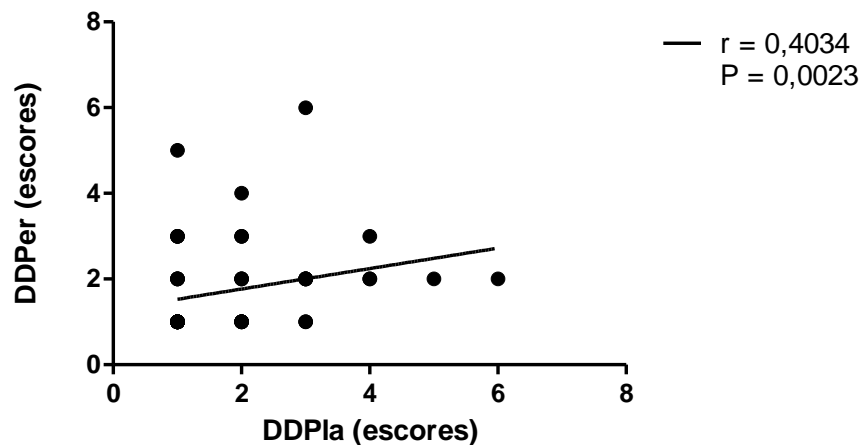


Fig. 9. Gráfico da correlação dos escores de dímeros-D plasmáticos e scores de dímeros-D peritoneais de equinos com síndrome cólica (N = 86)

O fato de uma correlação positiva entre DDPla e DDPer ter sido comprovada pelos testes estatísticos, corroborando com os achados de Argüelles *et al.* (2015), apesar dos animais com maiores escores de DDPla não serem os mesmos que aqueles com maiores escores de DDPer, pode ser justificado pela utilização nesse estudo de um tipo de teste que é semi-quantitativo, ou seja, que não determina valores específicos para cada amostra. Além disso, o uso desse teste, desenvolvido com anticorpos policlonais humanos, não foi validado para medição de dímero-D em equinos, de forma que não se sabe exatamente qual é o grau de reação cruzada e de precisão desse teste na espécie avaliada nesse estudo. Segundo Stokol *et al.* (2005), que mediu a concordância de 3 kits de aglutinação em látex com 1 kit de imunofiltração utilizado nos estudos europeus, o kit utilizado em nosso estudo apresentou baixa sensibilidade e baixa especificidade para avaliação das



concentrações de dímero-D, além de não ter nem mesmo média concordância com o kit mais adequado.

## CONCLUSÃO

Pudemos concluir que, apesar das concentrações de dímeros-D plasmáticas e peritoneais terem demonstrado um sentido biológico relacionado à gravidade dos casos de cólica na análise descritiva das variáveis clínicas e laboratoriais de equinos com essa enfermidade, isso não foi comprovado através da análise multivariada. Portanto, a determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através da utilização de kits semi-quantitativos de aglutinação em látex não teve sensibilidade para predição da gravidade e elucidação do diagnóstico e prognóstico de equinos com síndrome cólica, devendo ter seus resultados cuidadosamente interpretados pelo médico veterinário na rotina clínica. Mais estudos são necessários para avaliar a utilidade da determinação das concentrações plasmáticas e peritoneais de dímeros-D através de outros métodos laboratoriais.

## REFERÊNCIAS

- Argüelles D., Deldado M. A., Armengou L., Carmona J. U. & Prades M. 2015. Relationship between plasma and peritoneal fluid concentration of D-dimer and Transforming Growth Factor Beta 1 in horses with colic. *Journal of Equine Veterinary Science*. 35 (8):629-635.
- Asakura H. 2014. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models. *Journal of Intensive Care*. 2 (20):1-7. Disponível em < <http://www.jintensivecare.com/content/2/1/20>> Acesso em 8 dez. 2016.
- Cesarini C., Monreal L., Armengou L., Delgado M. A., Rios J. & Jose-Cunilleras E. 2010. Association of admission plasma D-dimer concentration with diagnosis and outcome in horses with colic. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24 (6):1490-1497.
- Cesarini C., Monreal L., Armengou L., Delgado M. A., Rios J. & Jose-Cunilleras E. 2014. Progression of plasma D-dimer concentration and coagulopathies

- during hospitalization in horses with colic. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 24 (6):672-680.
- Cook V. L. & Hassel D. M. Evaluation of the colic in horses: decision for referral. 2014. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 30 (3):383-398.
- Dallap B. L., Dolente B. & Boston R. Coagulation profiles in 27 horses with large colon volvulus. 2003. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 13 (4):215-225.
- Delgado M. A., Monreal L., Armengou L., Rios J. & Segura D. 2009. Peritoneal D-dimer concentration for assessing peritoneal fibrinolytic activity in horses with colic. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 23 (4):882-889.
- Di Fillippo P. A., Santana A. E., Nogueira A. F. S., Anai L. A. & Campos Filho, E. 2009. Características celulares e bioquímicas do líquido peritoneal de equinos submetidos à obstrução experimental do duodeno, íleo e cólon maior. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61 (6):1281-1289.
- Dolente B. A., Wilkins P. A. & Boston R. C. 2002. Clinicopathologic evidence of disseminated intravascular coagulation in horses with acute colitis. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 220 (7):1034-1038.
- Ihler C. F., Venger J. L. & Skjerve E. 2004. Evaluation of clinical and laboratory variables as prognostic indicators in hospitalized gastrointestinal colic horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 45 (x):109-118.
- Monreal I., Anglés A., Espada Y. & Monreal M. 2000. Hypercoagulation and hypofibrinolysis in horses with colic and DIC. *Equine Veterinary Journal*. 32 (S32):19-25.
- Monreal L. & Cesarini C. 2009. Coagulopathies in horses with colic. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 25 (2):247-258.
- Palareti G., Legnani C., Cosmi B., Antonucci E., Erba N., Poli D., Testa S. & Tosetto A. 2016. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: analysis of results obtained in the DULCIS study. *International Journal of Laboratory Hematology*. 38 (1):42-49.
- Reeves M. J., Curtis C. R., Salman M. D. & Hilbert B. J. 1989. Prognosis in equine colic patients using multivariable analysis. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 53 (1):87-94.

- Stokol T., Erb H. N., Wilde L. D., Tornquist S. J. & Brooks M. 2005. Evaluation of latex agglutination kits for detection of fibrin(ogen) degradation products and D-dimer in healthy horses and horses with severe colic. *Veterinary Clinical Pathology*. 34 (4):375-382.
- Tennent-Brown B. S., Wilkins P. A., Lindborg S., Russel G. & Boston R. C. 2010. Sequential plasma lactate concentrations as prognostic indicators in adult equine emergencies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24 (1):198-205.
- Wittek T., Grosche A., Locher L. F. & Fürll M. 2010. Diagnostic accuracy of D-dimer and other peritoneal fluid analysis measurements in dairy cows with peritonitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 24 (5):1211-1217.