

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA CAMPUS DE
BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DO COAGULOGRAMA EM CÃES COM
HEPATOPATIA**

SUSANA EDUARDO VIEIRA

Botucatu, São Paulo

Dezembro de 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA CAMPUS DE
BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DO COAGULOGRAMA EM CÃES COM
HEPATOPATIA**

SUSANA EDUARDO VIEIRA

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Medicina Veterinária da Universidade
Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia,
Botucatu-SP, para obtenção do título
de Mestre.

Área de Concentração: Clínica
Veterinária

Orientadora: Profa. Titular Dra.
Regina Kiomi Takahira

Botucatu, São Paulo

Dezembro de 2024

V658a Vieira, Susana
 Avaliação do coagulograma em cães com hepatopatia / Susana
Vieira. -- Botucatu, 2024
 60 p. : fotos

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientadora: Regina Kiomi Takahira

 1. Fígado. 2. Coagulação. 3. Canina. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esse estudo impacta positivamente por trazer dados acerca das alterações do coagulograma de cães com hepatopatia, uma vez que seu objetivo principal é avaliar a presença de coagulopatia associada a hepatopatia por testes convencionais de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero D) usados rotineiramente.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study has a positive impact by providing data on the coagulogram alterations in dogs with hepatopathy. Its primary objective is to assess the presence of coagulopathy associated with hepatopathy through conventional coagulation tests (prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen, and D-dimer), which are routinely used.

SUSANA EDUARDO VIEIRA

AVALIAÇÃO DO COAGULOGRAMA EM CÃES COM HEPATOPATIA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu-SP, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Clínica Veterinária

Data da defesa: 06/12/2024

Comissão Examinadora:

Profa. Titular Dra. Regina Kiomi Takahira
Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Botucatu, SP.

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso
Departamento de Clínica Veterinária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Botucatu, SP.

Dra. Simone Gonçalves Rodrigues Gomes
Diretora HEMOVET PETCARE

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária FMVZ Botucatu, por proporcionar o programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

A minha orientadora, Regina Kiomi Takahira, minha admiração profissional, que sempre me orientou da melhor maneira possível, sempre disponível para ensinar e sempre será meu maior exemplo dentro da Patologia Clínica e hemostasia.

Ao meu professor, Paulo Fernandes Marcusso, que tenho tanto carinho, por todo apoio e ensinamentos desde a residência até aqui e por sempre acreditar que posso além.

Aos colegas de profissão que me acompanharam e ajudaram ao longo da pesquisa, Letícia Gondim Souto, Giovanna Gati de Souza, Giovanna Valverde, Maria Luiza Mendonça, Amanda Parreira, Laura Magalhães, Lucas Cavalcante, Alisson Rafael Almeida Munis, Roberta Giudice, Bárbara Zequini e Pamella Stefani Andrade por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos.

Aos meus gatos: Plasmína, Regina e Roni Paulo por serem meus companheiros todos os dias.

Um agradecimento especial aos meus pais, por todo apoio, amor, carinho e por estarem sempre presentes em minha vida me incentivando a continuar a carreira acadêmica.

Obrigada Deus, por me dar saúde, força e sabedoria para enfrentar as adversidades e conseguir completar este ciclo que foi sonhado por muito tempo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE ABREVIACES E SIGLAS

Alanina aminotransferase	ALT
Tempo de protombina	TP
cido Etileno-Diamino-Tetraacético	EDTA
Aspartato aminotransferase	AST
Coagulao Intravascular Dissemimada	CID
Concentrao de hemoglobina corpuscular média	CHCM
Eritrócitos de largura de distribuio	RDW
<i>International Normalized Ratio</i>	RNI
<i>International Society on Thrombosis and Haemostasis</i>	ISTH
Plasma pobre de plaquetas	PPP
Produtos de degradao da fibrina	PDFs
Rotao por minuto	RPM
Tempo de tromboplastina parcial ativada	TTPa
Unidades internacionais por litro	UI/L
Volume corpuscular médio	VCM
Volume globular	VG
Volume plaquetário médio	MPV

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – TP (A), ALT (B), Fibrinogênio (C) e TTPa (D) do grupo 32 hepatopatas em relação ao grupo controle. A diferença estatisticamente significativa é indicada por $p < 0,001$ (****) na ALT, TTPa e fibrinogênio.

Figura 2 – Fibrinogênio (A), TTPa (B), TP (C) do grupo hepatopatia discreta 33 (discreto aumento de ALT) em comparação ao grupo hepatopatia intensa (intensa elevação de ALT). A diferença estatisticamente significativa é indicada por $p = 0,011$ (*) no TP.

Figura 3 – Relação do número de óbitos em 6 meses após confirmação de 34 hepatopatia em comparação aos parâmetros hemostáticos. A diferença estatisticamente significativa é indicada quando $p = 0,042$ no TTPa (*).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Diagnóstico de Hepatopatia	16
2.2.1 Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa).....	17
2.2.2 Fibrinogênio e Dímero-D	18
2.3 Utilização de ALT para determinação de dano hepático em conjunto com o coagulograma.....	19
3. OBJETIVOS	21
3.1 Objetivo geral.....	21
3.2 Objetivos específicos	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Comitê de Ética	21
4.2 Animais.....	21
4.2.1 Animais dos Grupos Hepatopata.....	21
4.2.2 Animais do Grupo Controle	22
4.3 Identificação dos cães em hepatopatia	22
4.3.1 Triagem	22
4.3.2 Confirmação de hepatopatia.....	23
4.4 Colheita dos exames laboratoriais	23
4.4.1 Hemograma	23
4.4.2 Dosagens bioquímicas	24
4.4.3 Coagulograma.....	24
4.4.4 Fibrinogênio	24
4.4.5 Dímero D.....	25
4.4.6 Exames complementares	25
4.4.7 Análise estatística	25
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
6. RESULTADOS	32
7. DISCUSSÃO	34
8. CONCLUSÕES	38
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
10. TRABALHO CIENTÍFICO	44

VIEIRA, S.E. **Avaliação do Coagulograma em Cães com Hepatopatia.** Botucatu, 2024. **58.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Resumo

A atividade sérica da Alanina aminotransferase (ALT) tem sido utilizada para a mensuração de dano hepático em pequenos animais (principalmente cães). Em se tratando da avaliação de dano hepático, o Tempo de Protrombina (TP) e o Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa) são considerados sensíveis indicadores de doença hepática em cães. Alguns estudos apontaram que o TP se apresentava como um melhor marcador prognóstico do que os níveis séricos de bilirrubina, transaminases, ou albumina em humanos com doença hepática aguda. Isso posto, pode-se inferir que distúrbios hemostáticos são complicações importantes e altamente letais em pacientes com hepatopatia, ou seja, considera-se relevante para a ciência médica o estudo de métodos diagnósticos que permitam a identificação precoce de alterações na coagulação sanguínea em cães com hepatopatia. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de coagulopatia associada a hepatopatia por testes convencionais de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero D). Foram utilizados 117 cães com dosagens de ALT normais ($n=40$), discretamente e intensamente aumentados ($n=77$). As amostras foram colhidas de jugular (tubo EDTA, tubo citrato de sódio e tubo com ativador de coágulo) após aprovação de conduta clínica de acordo com as necessidades do paciente e enviadas ao laboratório para análise. Neste estudo, foram acessados os laudos de citologia/biópsia para análise estatística. Nos resultados, foi visto que em relação ao efeito da doença hepática nos parâmetros hemostáticos, foi observado que pacientes hepatopatas apresentavam valores de ALT superiores ao grupo controle ($p<0,001$). O grupo hepatopata teve valores maiores de TTPa e fibrinogênio ($p<0,001$), porém sem aumento significativo ($p=0,072$) no TP e no dímero D ($p=0,441$) em relação ao grupo controle. Ao comparar o efeito da intensidade da elevação da ALT nos parâmetros hemostáticos, notou-se diferença significativa ($p=0,011$) entre o grupo hepatopata com elevação leve e intensa da ALT sob TP, mas isso não foi observado em relação ao TTPa ($p=0,399$), fibrinogênio ($p=0,15$) e D-dímero ($p=0,256$). Em relação as etiologias

encontradas, o carcinoma hepático, degeneração hepatocelular, hepatite crônica e shunt foram as que mais prevaleceram no estudo. Todos os parâmetros avaliados tiveram aumento significativo em relação ao grupo controle, porém isso não aconteceu na análise individual, justificado pelo N amostral não ser suficiente e igual entre as etiologias. Conclui-se que existe correlação entre coagulopatia em cães com doenças hepáticas de diferentes etiologias e que o coagulograma é essencial na avaliação de cães com doenças hepáticas, principalmente na avaliação de TTPa. A ALT desempenhou um papel muito importante no rastreio destes pacientes, tornando-se essencial na avaliação. O Dímero – D, dosagem de fibrinogênio e avaliação de plaquetas devem ser considerados nestes pacientes afim de descartar quadros de CIVD e possível pior prognóstico.

Palavras-chave: fígado; coagulação; canina.

VIEIRA, S.E. **Coagulogram Assessment in Dogs with Hepatopathy**. Botucatu, 2024. **58**. Dissertation (Master's Degree) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho”.

Abstract

Serum Alanine aminotransferase (ALT) activity has been used to measure liver damage in small animals (mainly dogs). When it comes to assessing liver damage, Prothrombin Time (PT) and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) are considered sensitive indicators of liver disease in dogs. Some studies have shown that PT is a better prognostic marker for serum levels of bilirubin, transaminases or albumin in humans with acute liver disease. It can be inferred that hemostatic disorders are important and highly lethal complications in patients with hepatopathy, therefore it is relevant for medical science to study diagnostic methods that allow for the early identification of alterations in blood coagulation in dogs with hepatopathy. The aim of this study was to assess the presence of coagulopathy associated with liver disease using conventional coagulation tests (prothrombin time, activated partial thromboplastin time, fibrinogen and D-dimer). A total of 117 dogs with normal ($n=40$), mildly and severely increased ($n=77$) ALT levels were used. Samples were taken from the jugular vein (EDTA tube, sodium citrate tube and tube with clot activator), after approval of clinical management according to the patient's needs and sent to the laboratory for analysis. In this study, the cytology/biopsy reports were accessed for statistical analysis. The results showed that patients with liver disease had higher ALT values than the control group ($p<0.001$). The liver disease group had higher TTPa and fibrinogen values ($p<0.001$), but no significant increase ($p=0.072$) in PT and D-dimer ($p=0.441$) compared to the control group. By comparing the effect of the intensity of ALT elevation on hemostatic parameters, there was a significant difference ($p=0.011$) between the liver disease group with mild and severe ALT elevation under PT, but this was not observed in relation to aPTT ($p=0.399$), fibrinogen ($p=0.15$) and D-dimer ($p=0.256$). Regarding the etiologies, liver carcinoma, hepatocellular degeneration, chronic hepatitis and shunt were the most prevalent in the study. All the parameters evaluated showed a significant increase compared to the control group, but this was not the case in the individual analysis, since the sample size was not sufficient and equal between the etiologies. In

conclusion, there is a correlation between coagulopathy in dogs with liver diseases of different etiologies and the coagulogram is essential in the assessment of dogs with liver diseases, especially in the evaluation of aPTT. ALT played a very important role in screening these patients, making it essential in the assessment. D-dimer, fibrinogen dosage and platelet assessment should be considered in these patients to rule out DIC and a possible worse prognosis.

Keywords: liver; coagulation; canine.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO

A atividade sérica da Alanina aminotransferase (ALT) tem sido utilizada para a mensuração de dano hepático, sendo considerado um dos melhores testes para este fim em pequenos animais (principalmente cães), pois seu aumento está relacionado com a extensão da lesão (ALLISSON, 2015).

Em se tratando da avaliação de dano hepático, temos em conjunto com a ALT, o TP e TTPa que são considerados sensíveis indicadores de doença hepática em cães (BADYLAK & VAN VLEET, 1981; GREEN, 1981; BADYLAK et al., 1983; PARRY, 1989), gatos (HUGHES e KING, 1995; LISCIANDRO et al., 1998) e humanos (JOIST & GEORGE, 2001; AMITRANO et al., 2002). Desta forma, doenças hepáticas podem prolongar o TP e o TTPa.

Alguns estudos apontaram que o TP se apresentava como um melhor marcador prognóstico do que os níveis séricos de bilirrubina, transaminases, ou albumina em humanos com doença hepática aguda (JOIST & GEORGE, 2001; AMITRANO et al., 2002), ou seja, o TP é o mais sensível ao dano hepático, mostrando-se alterado nas fases iniciais da doença (RIZZATTI & FRANCO, 2001; REZENDE, 2010), desse modo há importância da correlação da enzima ALT com o TP e TTPa.

De acordo com Thrall et al. (2015), animais com dano hepático podem apresentar distúrbios na hemostasia, em vários testes de coagulação, além disso a menor função plaquetária pode estar associada a problemas hepáticos. Além disso, muitos autores consideram que o aumento acentuado da atividade sérica da ALT em cães é altamente sugestivo de intensa destruição hepática, com estudos afirmando haver estreita correlação entre atividade enzimática sérica e alterações histopatológicas (DIAL, 1995; HUGHES & KING, 1995; TENNANT, 1997; LASSEN, 2004), implicando ainda mais na hipótese da correlação do aumento de ALT com os tempos de protrombina e tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero-D, já que também fazem parte da avaliação da coagulação sanguínea.

Isso posto, pode-se inferir que distúrbios hemostáticos são complicações importantes e altamente letais em pacientes com hepatopatia, ou seja, considera-se relevante para a ciência médica o estudo de métodos diagnósticos

que permitam a identificação precoce de alterações na coagulação sanguínea em cães com hepatopatia.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de coagulopatia associada a hepatopatia por testes convencionais de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero D).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diagnóstico de Hepatopatia

2.2 Alanina Amino Transferase (ALT)

O fígado é um órgão bem localizado que desempenha diversos papéis cruciais para o bom funcionamento do organismo. Dentre elas se destacam: grande aporte venoso proveniente da veia porta e o restante da artéria hepática, favorecendo a absorção de nutrientes, captação e metabolização de substâncias tóxicas e microrganismos que possam ser absorvidos pelo intestino (Allison, 2015; König et al., 2016).

Sua unidade funcional são os hepatócitos, ou seja, quando há alguma lesão nestas células, há alteração da permeabilidade da sua membrana, causando extravasamento das enzimas situadas no citoplasma ou no interior de organelas citoplasmáticas (Allisson, 2015).

Dentre essas enzimas, destaca-se a ALT que faz parte da catalisação da reação de desaminação da alanina em piruvato e está relacionada à via da gliconeogênese e ao ciclo de Krebs. Sua meia-vida é de 48-72 horas e, embora não seja 100% hepatoespecífica, pode ser encontrada livremente no citoplasma dos hepatócitos e também em músculos, ou seja, seu aumento deve ser levado em consideração lesões musculares (Scott e Stockham, 2016).

O aumento das concentrações da ALT, quando excluídos causas extra-hepáticas, são observados em processos agudos causados por hipóxia, inflamação, neoplasia, medicamentos (principalmente os corticosteroides e os anticonvulsivantes), processos toxêmicos e, também na fase de recuperação hepática, quando ocorre regeneração dos hepatócitos. Em processos de curso crônico, como observados em fase terminal, essa enzima, muitas vezes se

apresenta com atividade normal ou abaixo do intervalo de referência para a espécie (Allison, 2015).

Para cães, a ALT é uma das enzimas usadas para avaliar o comprometimento hepático. Segundo Bush (1991) é o melhor teste para detectar dano hepático em pequenos animais. Embora presente no coração, nos rins, músculos e eritrócitos, a enzima oriunda destes órgãos não é suficiente para aumentar a ALT em mais de três vezes (WILLARD; TVEDTEN, TURNWALD, 1993), o que a torna indispensável na suspeita de hepatopatia.

O aumento da ALT está relacionado com o número de células envolvidas, ou seja, com a extensão e, quando relacionada a fígado, pode compreender a congestão hepática, por exemplo, se o aumento for discreto. Já um aumento moderado a marcante é observado em: Necrose celular, hepatite tóxica ou infecciosa, congestão hepática, carcinoma, cirrose (pode estar normal), sendo sempre preconizado sua avaliação com exames complementares como ultrassom, citologia ou biópsia hepática (SILVA et al., 2020).

2.2.1 Tempo de Protrombina (TP) e Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa)

Assim como a ALT desempenha papel fundamental na avaliação hepática, podemos contar também com testes de coagulação sanguínea, haja vista que o fígado também compreende, como uma de suas funções, a produção da maioria dos fatores de coagulação (PEDROSO e MAESTRI, 2019).

Os hepatócitos são sintetizadores dos fatores de coagulação, tais como o fibrinogênio – fator I, a protrombina – fator II, os fatores V, VII, VIII:C, IX, X, XI, XII e XIII, bem como da precalicreína e cininogênio de alto peso molecular (Coles, 1984; Center et al., 1995; Meyer & Harvey, 1998, Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano et al, 2002; Baker, 2004).

Os testes de monitoramento da coagulação envolvem a ativação *in vitro* de partes da cascata de coagulação e medem o tempo até a formação do coágulo estável (TSENG et al., 2001). O tempo de protrombina (TP) é usado para avaliar as vias extrínseca (fator VII) e comum (fatores X, V, II e I), enquanto o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) é usado para monitorar as vias

intrínseca (fatores XII, XI, IX e VIII) e comum (JAIN, 1993; RAND et al., 1996; DODDS, 1997; GREEN & THOMAS, 1997; COUTO, 1999), que fazem parte da hemostasia secundária.

Os reagentes utilizados para determinar o TP e o TTPa são desenvolvidos para determinação em plasma humano (GREENE et al., 1981), e são adaptados para uso em cães e permitem a determinação quantitativa manual ou automática do TP e do TTPa.

Em pacientes humanos com insuficiência hepática aguda, cirrose hepática avançada e pós-transplante de fígado, comumente apresentam manifestações clínicas de sangramento anormal (Amitrano et al., 2002), tais como epistaxis, sangramento gengival, equimoses e sangramento de trato gastrointestinal e são acompanhados periodicamente com testes de coagulação (Tabasco-Minguilan et al., 1997; Joist & George, 2001).

Em estudos com cães e gatos com doença hepática, poucos desenvolvem manifestações clínicas de coagulopatias (menos de 2%), apesar de apresentarem anormalidades em seus coagulogramas (66- 93%) (Badylak & Van Vleet, 1981; Badylak et al., 1983; Prater, 2000), devendo ser levado em consideração e com atenção, visto que se poucos animais irão desenvolver sangramentos, precisamos de uma abordagem mais precoce no diagnóstico e, conseqüente, tratamento mais eficaz evitando justamente essa fase hemorrágica da doença hepática.

2.2.2 Fibrinogênio e Dímero-D

Em cães com doença hepática, o fibrinogênio pode ser encontrado tanto normal quanto aumentado, mas decresce na cirrose avançada, como resultado de síntese inadequada, perdas para espaços extravasculares e Coagulação Intravascular Disseminada (CID), ou seja, sua importância é significativa no monitoramento desses pacientes (Green, 1981; Parry, 1995; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano et al., 2002). Hardaway et al (2001) afirmam que nos casos de CID em humanos o fibrinogênio se encontra elevado devido à alta produção pelo fígado em resposta ao estresse, o presente estudo partiria da premissa de que isso poderia estar acontecendo em cães.

O aumento de PDF com marcada hipofibrinogenemia e trombocitopenia foi observado em alguns pacientes humanos com hepatite fulminante (Joist & George, 2001), ou seja, fase hiperfibrinolítica. Embora alguns autores considerem que a hiperfibrinólise não seja comumente vista em pacientes com doença hepática aguda, a sua ocorrência está relacionada com o grau de severidade da mesma e deve ser avaliada em conjunto com os outros testes de coagulação (Amitrano et al., 2002).

Em humanos, um estudo traz que não existe consenso na literatura em relação à melhor forma de diagnosticar hiperfibrinólise em portadores de cirrose hepática, pois a determinação ou dosagem de marcadores isolados costuma superestimar sua prevalência, mas não exclui a dosagem de Dímero-D nestes pacientes e ainda sugere correlação com os demais testes de coagulação (TRIPODI, 2009).

2.3 Utilização de ALT para determinação de dano hepático em conjunto com o coagulograma

O fígado desempenha um papel crítico tanto na formação como na destruição de pró-coagulantes e anticoagulantes, bem como de componentes da fibrinólise, não sendo surpreendente que uma grande variedade de distúrbios de coagulação possa acompanhar a doença hepática (O'Leary et al., 2019).

Os testes usados na rotina clínica (TP, TTPa e fibrinogênio) para avaliação da hemostasia secundária fornecem informações práticas e podem ajudar a orientar a tomada de decisões (Stotts et al., 2020). A interpretação e o manejo destes testes de coagulação anormais em indivíduos com alguma lesão hepática são desafiadores, especialmente quando esses pacientes precisam de procedimentos invasivos ou apresentam algum sangramento (NORTHUP e CALDWELL, 2013; AMBROSINO et al., 2017).

Um estudo em humanos avaliou a correlação entre os níveis plasmáticos das enzimas transaminases, o tempo de protrombina (TP) e a razão normatizada internacional (RNI) em pacientes com litíase biliar. O RNI é um cálculo matemático realizado pelos aparelhos, cuja liberação é automática, a partir do resultado do TP e do Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) (fornecido pelo fabricante), o que permite uma comparação interlaboratorial, independentemente do fornecedor, da

tromboplastina, matriz ou aparelho/metodologia utilizada. Nos indivíduos com TP e RNI elevados, foi observado que 64,58% dos pacientes apresentavam níveis aumentados de ALT associados ao TP elevado, enquanto 60,8% mostraram ALT elevada em relação à RNI aumentada. Os dados indicaram que pacientes com ALT elevada possuíam um grau considerável de disfunção hepática, associada a complicações como disfunção na hemostasia, caracterizada pelo aumento do TP, possivelmente relacionado a distúrbios hemorrágicos na via extrínseca da coagulação (BANDEIRA et al., 2014).

Em cães, prolongamentos leves a moderados do TP e do TTPa foram relatados em cerca de 40% dos pacientes com hepatite crônica, refletindo presumivelmente falhas na sua síntese ou deficiência de vitamina K (Kavanagh et al. 2011). Concentrações diminuídas de fibrinogênio também foram relatadas em 60% dos cães com hepatite crônica, particularmente em estágios avançados da doença (Prins et al. 2010).

Em cães com doença hepática crônica, por exemplo, foram descritos estados de hipocoagulabilidade (24%), normocoagulabilidade ou hipercoagulabilidade (33%), com 25% dos cães sendo hiperfibrinolíticos (Fry et al. 2017; Wilkinson et al. 2022). Vale incluir que há relação da doença hepática com hiperfibrinólise, devido à redução na depuração hepática dos ativadores da plasmina e à redução na síntese hepática dos principais inibidores da plasmina, um dos exames que avalia a hiperfibrinólise é o Dímero-D. O Dímero-D é um dos fatores de degradação da fibrina (PDF) e seu aumento indica hiperfibrinólise, sendo assim de suma importância a inclusão do Dímero-D, nestes pacientes (avalia hiperfibrinólise) (Eby e Joist, 2006).

Estudos afirmam haver estreita correlação entre atividade enzimática sérica de ALT e mudanças histopatológicas (DIAL, 1995; HUGHES & KING, 1995; TENNANT, 1997; LASSEN, 2004). Vale ressaltar que estudos são escassos acerca da confirmação de hepatopatia, sendo, em sua maioria, apenas sugestivos, o que torna importantíssimo a utilização de citologia ou biópsia hepática para confirmação diagnóstica e, consequente, sucesso no tratamento.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar se há relação entre a hepatopatia e coagulopatia.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar se há relação entre a gravidade do quadro clínico e os parâmetros hemostáticos;
- Avaliar a presença de coagulopatia associada a hepatopatia por testes convencionais de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero-D).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de Ética

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), Campus Botucatu, São Paulo, sob o protocolo 000.203/2023.

4.2 Animais

4.2.1 Critérios de inclusão (Grupo hepatopata)

Foram selecionados 77 cães atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP, Botucatu, São Paulo, e do Hospital Veterinário INOVA em Sorocaba, São Paulo, sendo machos e fêmeas, de 2 até 9 anos, que apresentaram dosagem de ALT aumentada que, após avaliação clínica e resultado de ultrassom (hepatomegalia), foi sugerido um quadro de hepatopatia. Durante a consulta clínica feita por um Médico Veterinário, foi avaliado a necessidade de mais exames complementares a fim de confirmar hepatopatia existente e sua causa, sendo utilizado citologia ou biópsia hepática dependendo da suspeita e conduta

clínica. Os resultados dos exames foram tabulados e separados de acordo com a escolha do exame confirmatório. Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste estudo.

O grupo hepatopata foi subdividido de acordo com os valores de ALT em dois grupos: discretamente aumentados (até 250 UI/L) e intensamente aumentados (acima de 250 UI/L).

Foram selecionados para o estudo no grupo hepatopata apenas os animais que tinham ALT aumentada para avaliar a relação do aumento com os parâmetros hemostáticos. Foram excluídos do estudo, os que não tinham ultrassonografia observando hepatomegalia ou que não fizeram biópsia/citologia para confirmação da origem da hepatopatia. Também houve exclusão dos animais que apresentavam trombocitopenia associada a doenças concomitantes (infecciosas ou não).

O período de acompanhamento dos pacientes foi de 6 meses.

4.2.2 Animais do Grupo Controle

Foram selecionados 40 cães hígidos do Banco de Sangue Canino do Laboratório Clínicos Veterinário (LCV), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP, Botucatu, São Paulo, que passaram por exames físicos e clínicos, bem como anamnese, exames como hemograma, bioquímica sérica e coagulograma (TP, TTPa, fibrinogênio e Dímero-D).

Foram excluídos do grupo controle todos os animais com idade inferior a 1 ano e superior a 8 anos (idade segura para serem doadores de sangue), histórico de doenças anteriores e os que apresentaram qualquer alteração clínica ou em exames laboratoriais. Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste estudo.

4.3 Identificação dos cães em hepatopatia

4.3.1 Triagem

No momento do atendimento clínico, os animais foram triados por meio dos sinais clínicos de suspeita de hepatopatia como icterícia, perda de apetite,

dor abdominal ou uso de medicamentos que afetam o funcionamento hepático (exemplo: fenobarbital) e encaminhados a exames complementares como bioquímica sérica e ultrassonografia abdominal.

4.3.2 Confirmação de hepatopatia

Para a confirmação dos cães com hepatopatia, foi utilizado os resultados da ultrassonografia com hepatomegalia, citologia ou biópsia hepática confirmando diagnóstico de hepatopatia e sua origem para posterior correlação com a dosagem de ALT.

4.4 Colheita dos exames laboratoriais

Foi colhido cerca de 5,0 mL de sangue total por venopunção única da jugular externa usando um tubo à vácuo contendo anticoagulante Ácido Etileno-Diamino-Tetraacético (EDTA K3) a 7,5% para hemograma (usado cerca de 2,0 mL) e um tubo seco para as análises bioquímicas (1 mL). Para avaliação hemostática, o sangue foi coletado em tubo à vácuo contendo citrato de sódio a 3,2% (usado 2,0 mL). As amostras de sangue total citratado destinadas ao coagulograma foram submetidas à análise 60 minutos após a colheita. O plasma pobre de plaquetas (PPP) obtido após a centrifugação do sangue citratado foram imediatamente separados em duas alíquotas, congelados e armazenados em freezer (-80 °C) até a análise dos testes de tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa), Dímero-D e fibrinogênio.

4.4.1 Hemograma

A contagem de glóbulos vermelhos, leucócitos totais, plaquetas e hemoglobina, bem como o volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume plaquetário médio (MPV) e eritrócitos de largura de distribuição (RDW) foi realizada em um balcão veterinário automatizado sistema celular (Celltac®, Nihon Kohden). O volume globular (VG) foi determinado usando o método microcapilar Strumia (11.400 rpm por 5 minutos). A contagem diferencial de leucócitos, juntamente com avaliação morfológica de glóbulos vermelhos células, leucócitos e plaquetas, bem como a estimativa de plaquetas por campo de 1.000x, foi realizado em um

esfregaço de sangue corado com corante hematológico comercial (Instant-Prov, Newprov, Pinhais, PR, Brasil), seguindo as recomendações de Jain (1986).

Em caso de inconsistência com a avaliação do esfregaço, a contagem de plaquetas foi realizada com hemocítômetro de acordo com a metodologia anterior descrita (BRECHER; CRONKITE, 1950).

4.4.2 Dosagens bioquímicas

O soro foi obtido centrifugando o sangue após a coleta. A avaliação da bioquímica sérica foi realizada em um dispositivo bioquímico automatizado (Roche® - Cobas Mira Plus) utilizando kits (Bioclin® e Labtest®) de acordo com as recomendações do fabricante. A análise bioquímica incluiu a alanina aminotransferase (ALT) como foco principal do trabalho.

4.4.3 Coagulograma

Para obtenção do plasma, os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 10 minutos e os testes de coagulação foram realizados de forma semi-automatizada (CLOTimer, Quick Timer, São Paulo, Brasil) utilizando um conjunto de reagentes comerciais, sempre em duplicado. A avaliação do TP consistiu em medir o tempo de coagulação plasmática após a adição de uma fonte de fator tecidual (tromboplastina) e cálcio, resultando na formação do coágulo de fibrina, de acordo com as recomendações do fabricante (TP Clot, BIOS Diagnóstica, São Paulo, Brasil). A avaliação do TTPa consistiu em determinar o tempo de coagulação plasmática após a adição de um reagente com ativador plasmático (ácido elágico) e fosfolipídios (substitutos plaquetários), incubação para ativação e subsequente recalcificação da amostra, até a formação do coágulo, de acordo com as recomendações. (Coágulo TTPA, BIOS Diagnóstica, São Paulo, Brasil).

4.4.4 Fibrinogênio

O método Clauss foi usado para medir o fibrinogênio, que mede a taxa de conversão de fibrinogênio em fibrina em um plasma diluído na presença de excesso de trombina. Foi realizado de forma semi-automatizada (CLOTimer,

QuickTimer, São Paulo, Brasil) de acordo com as recomendações do fabricante (Fibrinogênio Clot, BIOS Diagnóstica, São Paulo, Brasil).

4.4.5 Dímero D

O D-Dímero foi feito por teste de imunoensaio fluorescente para medição quantitativa do nível em amostras de plasma em um tubo de citrato. Sendo medido em equipamento da marca teste (ECO Diagnóstica).

4.4.6 Exames complementares

Não houve critério de inclusão para uso específico da citologia ou biópsia, sendo discutida a conduta clínica de forma individual. No presente estudo, foi utilizado apenas o laudo disponibilizado com o objetivo de confirmação da hepatopatia.

4.4.7 Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk, e o teste Mann-Whitney ou Kruskal Wallis seguido do teste de Dunn foram utilizados para comparação dos parâmetros avaliados em diferentes grupos. Em todas as análises a significância estatística foi estabelecida em um valor de $p < 0,05$.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLISON, R. W. Avaliação laboratorial da função hepática. In.: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 26, p. 853-903. 2015.

AMBROSINO, P. et al. The risk of venous thromboembolism in patients with cirrhosis. A systematic review and meta-analysis. **Thromb Haemost.** p.117:139–148, 2017.

AMITRANO, L.; GUARDASCIONE, M.A.; BRANCACCIO, V.; BALZANO, A. coagulation disorders in liver disease. **Semin. Liver Dis.**, New York, v.22, n.1,

p.83-96, feb. 2002.

BADYLAK, S.F.; DODDS, W.J.; VAN VLEET, J.F. Plasma coagulation factor abnormalities in dogs with naturally occurring hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.44, n.12, p.2336-2340, dec. 1983.

BADYLAK, S.F.; VAN VLEET, J.F. Alterations of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in dogs with hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.42, n.12, p.2053-2056, dec. 1981.

BAKER, D.C. Diagnosis of disorders of hemostasis. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WIESER, G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. cap. 14, p.179-196.

BANDEIRA, S. M. F. et al. Correlação entre os níveis plasmáticos de transaminases e o tempo de protrombina em pacientes com litíase biliar. **Anais CONACIS**. Campina Grande: Realize Editora, 2014.

BUNCH, S.E.; POLAK, D.W.; HORNBuckle, W.E. A modified laparoscopic approach for liver biopsy in dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg, v.187, n.10, p.1032-1035, nov. 1985.

CENTER, S.A.; JOHNSON, S.E.; BUNCH, S.E. Pathophysiology, laboratory diagnosis and diseases of the liver. In: ETTINGER, S.; FELDMAN, E. eds. **Textbook of veterinary internal medicine**. 4.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995. p.1745-1899.

COUTO, C.G. Clinical approach to the bleeding dog or cat. **Vet Med**, v.94, p.450-459, 1999.

DIAL, S. M. Clinicopathologic evaluation of the liver. *Vet. Clin North Am.* **Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.257-273, mar. 1995.

DODDS, W.J. Hemostasis. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. cap.10, p. 241-283.

GREEN, R.A. Hemostasis and disorders of coagulation. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.11, n.2, p.289-319, may. 1981.

HARDAWAY, R.M.; WILLIAMS, C.H.; VASQUEZ, Y. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. **Semin. Thromb. Hemost.**, New York, v.27, n.6, p.577-583, aug. 2001.

HUGHES, D.; KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dogs and cats. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.437- 459, mar. 1995.

JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: **Lea & Febiger**, p. 417, 1993.

JOIST, J.H.; GEORGE, J.N. Hemostatic abnormalities in liver and renal disease. In: COLMAN, R.W.; HIRSH, J.; MARDER, V.J.; CLOWES, A.W.; GEORGE, J. N. **Thrombosis and hemostasis: basic principles and clinical practice**. 4.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. cap.58, p.955-973.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; LASSEN, E.D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WIESER, G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. cap. 23, p.355-375.

KAVANAGH, C. et al. "Coagulation in hepatobiliary disease." **Journal of veterinary emergency and critical care** 21 6 (2011): 589-604.

KONIG, H.E, et al, Sistema Imune e Sistema Linfático (Systema Immune e Systema Lymphoideum). In: KONIG, H.E; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos Animais domésticos**. 6ª Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 494, 2016.

LASSEN, E. D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WIESER, G. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. cap. 23, p.355-375.

LISCIANDRO, S.C.; HOHENHAUS, A.; BROOKS, M. Coagulation abnormalities in 22 cats with naturally occurring liver disease. **J. Vet. Intern. Med.**, v.12, p. 71-75, 1998.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Veterinary laboratory medicine. interpretation & diagnosis. 2.ed. Philadelphia: W.B. **Saunders Company**, 2004. 373p.

NORTHUP, P.G.; CALDWELL, S.H. Coagulation in Liver Disease: A Guide for the Clinician. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. v. 11, p. 1064-1074, 2013.

O'LEARY, J.G et al. AGA clinical practice update: coagulation in cirrhosis. **Gastroenterology**. v. 157, n. 1, p. 34-43, 2019.

PARRY, B. W. Laboratory evaluation of hemorrhagic coagulopathies in small animal practice. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.** Philadelphia, v.19, n.4, p.729-743, july. 1989.

PEDROSO, C. K.; MAESTRI, J. S. **Hepatite crônica**. **Scientia Rural**, v. 19, p.1-9.2019.

PRATER, M.R. Acquired coagulopathy I: avitaminosis K. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000a. cap.81, p.556-559.

RAND, M.L. et al. Plasma proteins, immunoglobulins, & blood coagulation. In: _____. **Harper's biochemistry**. 24.ed. Samford : Appleton & Lange, 1996. Cap.59, p.707-732

REZENDE, S.M. Distúrbios da hemostasia: distúrbios hemorrágicos. **Revista de Medicina Minas Gerais**. V.20, n. 4, p. 534-553, 2010.

RIZZATTI, E.G.; FRANCO, R. F. Investigação diagnóstica dos distúrbios hemorrágicos. **Medicina, Ribeirão Preto**. v.34, p.238-247, 2001.

SILVA, M. R. et al (2020). Qualidade de vida de pacientes renais crônicos submetidos à hemodiálise: Uma revisão integrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, 3(4), p. 9344-9374.

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. **Fundamentals of veterinary clinical pathology**.Iowa: Iowa State Press, 2002. chap. 5, p.155-255.

STOTTS, M.J.; DAVIS, J.P.E.; SHAH, N.L. Coagulation testing an management in liver disease patients. **Curr Opin Gastroenterol**. v. 36, n. 3, p. 169-176, 2020.

TABASCO-MINGUILLAN, J.; JAIN, A.; NAIK, M.; WEBER, K.M.; IRISH, W.; FUNG, J.J.; RAKELA, J.; STARZL, T.E. Gastrointestinal bleeding after liver transplantation [clinical transplantation]. **Transplantation**, Baltimore, v.63, n.1, p.60-67, jan. 1997.

TENNANT, B.C. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. cap.13, p.327-352.

THRALL M.A. et. al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 349 a 360, 2015.

TRIPODI, A.M. The coagulopathy of chronic liver disease. **N Engl J Med**. 2011 Jul;365(2): 147-56.

TSENG, L.W. et al. Evaluation of a point-of-care coagulation analyzer for measurement of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and activated clotting time in dogs. **Am J Vet Res**, v.62, n.9, p.1455-1460, 2001.

WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory-methods**. 3 th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999. 395 p.

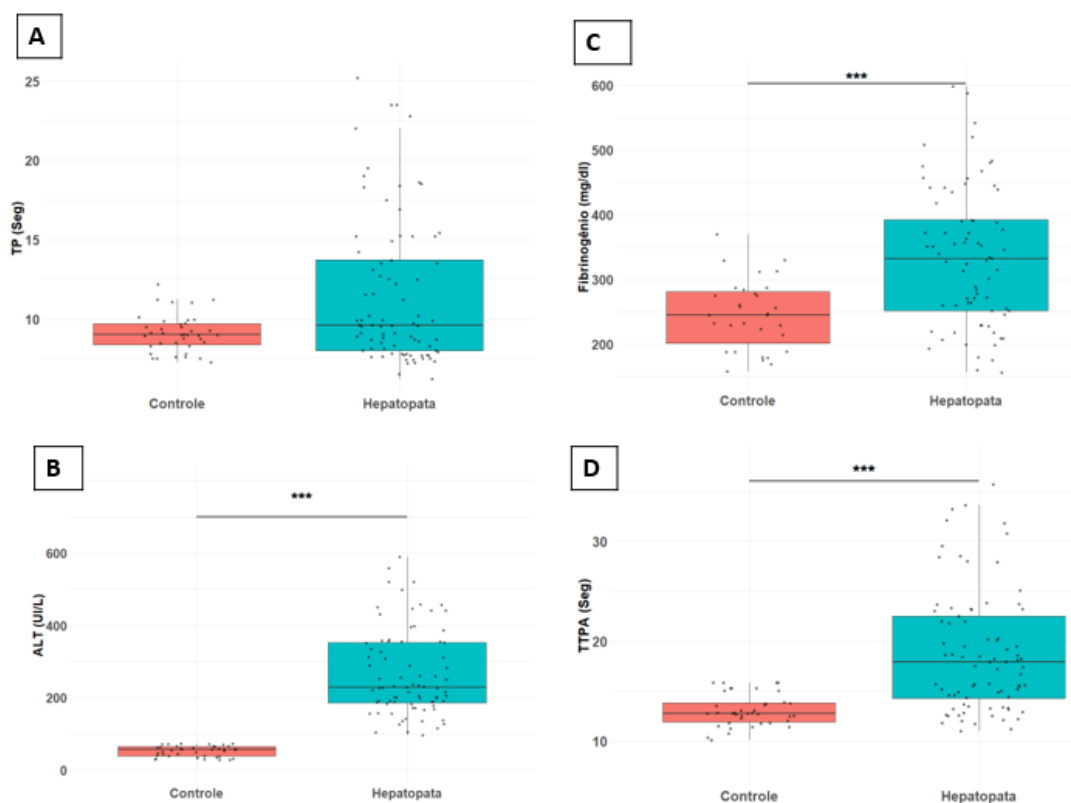
CAPÍTULO 2

6. RESULTADOS

Dos 77 animais usados no estudo, 27 foram diagnosticados por meio de citologia hepática e o restante (50) foram por meio de biópsia. As etiologias encontradas foram: carcinoma hepático (18), degeneração hepatocelular (17), hepatite crônica (10), hepatopatia medicamentosa por meio do fenobarbital (8), shunt (8), hemangiossarcoma (8), insuficiência crônica (4) e hepatite difusa (4).

Nos resultados, foi visto que em relação ao efeito da doença hepática nos parâmetros hemostáticos, foi observado que pacientes hepatopatas apresentavam valores de ALT superiores ao grupo controle ($p < 0,001$). O grupo hepatopata teve valores maiores de TTPa e fibrinogênio ($p < 0,001$), porém sem aumento significativo ($p = 0,072$) no TP e no dímero D ($p = 0,441$) em relação ao grupo controle.

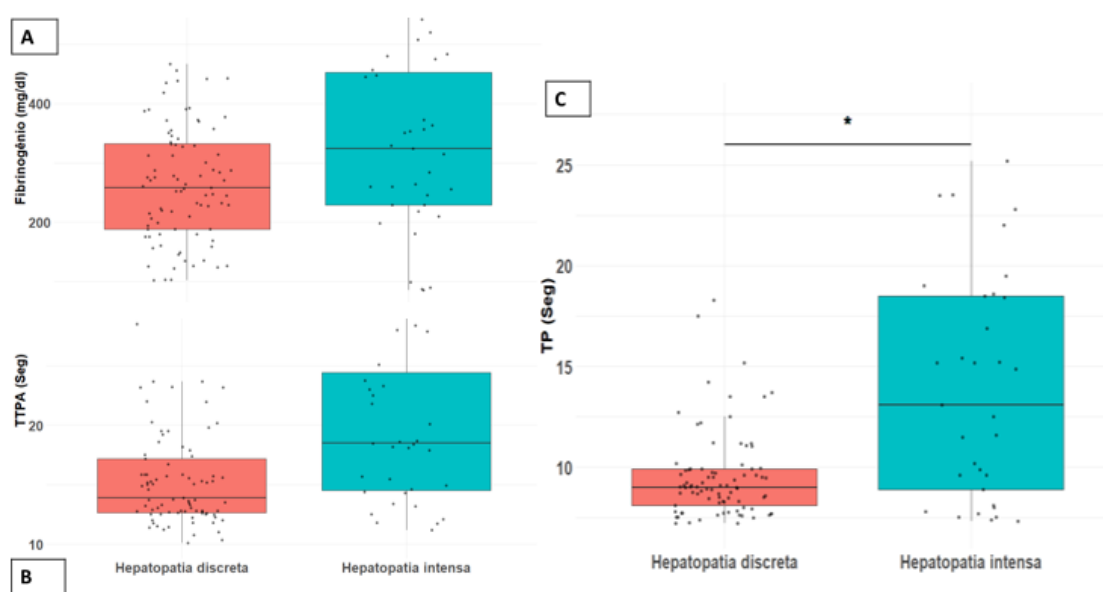
Figura 1 - TP (A), ALT (B), Fibrinogênio (C) e TTPa (D) do grupo hepatopatas em relação ao grupo controle. A diferença estatisticamente significativa é indicada por $p < 0,001$ (****) na ALT, TTPa e fibrinogênio.



Dos 77 animais, todos apresentaram trombocitopenia, sendo 50 (64,93%) trombocitopenia moderada (média 80.000/ μ L) e 27% (35,07%) trombocitopenia intensa (abaixo de 30 mil/ μ L). (KANEKO et al., 1997).

Ao comparar o efeito da intensidade da elevação da ALT em relação aos parâmetros hemostáticos, foi observada diferença significativa ($p=0,011$) (Figura 2) entre os grupos de doença hepática com elevação leve e intensa de ALT sob TP, mas isso não foi observado em relação ao TTPa ($p=0,399$), fibrinogênio ($p=0,15$) e D-dímero ($p=0,256$).

Figura 2 - Fibrinogênio (A), TTPa (B), TP (C) do grupo hepatopatia discreta (discreto aumento de ALT) em comparação ao grupo hepatopatia intensa (intensa elevação de ALT). A diferença estatisticamente significativa é indicada por $p=0,011$ (*) no TP.

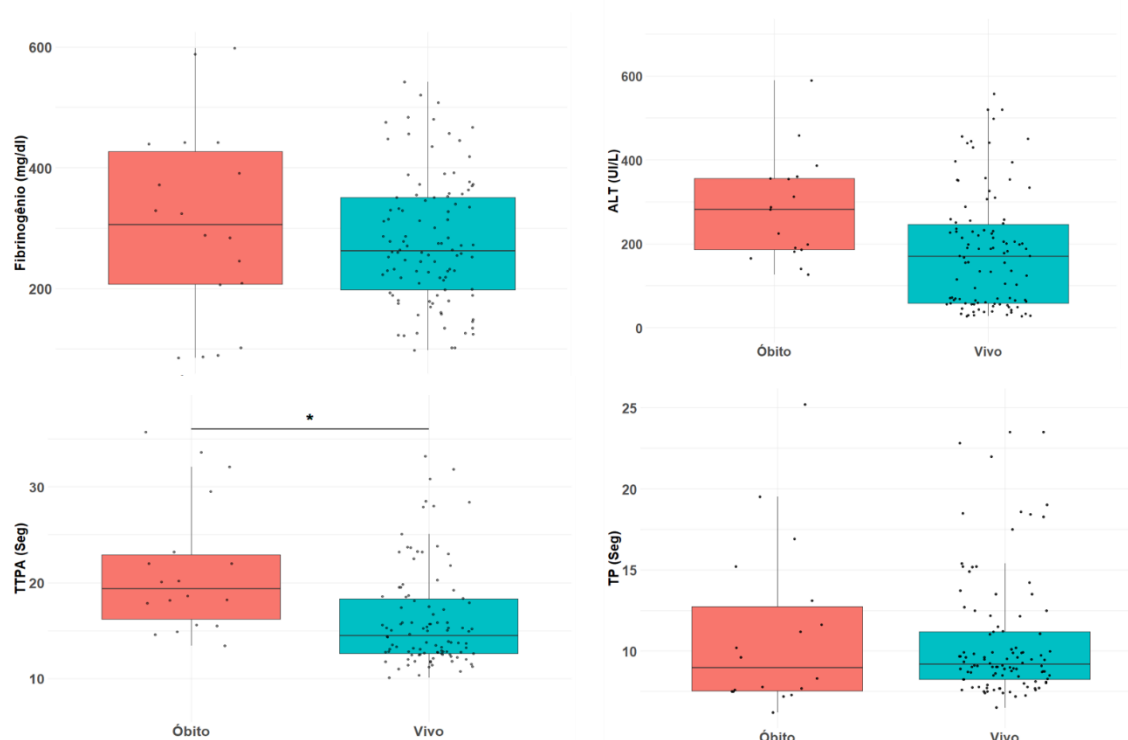


Houve diferença estatística ($p<0,001$) entre os parâmetros de TP, TTPa, Fibrinogênio, D-dímero ($p=0,008$) e ALT ($p<0,001$) em relação a hepatopatia, porém quando analisado as etiologias de formas isoladas não houve diferença entre os grupos. Na análise individual na ALT houve diferença apenas entre os grupos: Controle e hepatite difusa; Controle e shunt; Controle e hemangiossarcoma, sem diferença entre os outros subgrupos.

Com relação aos óbitos em um período de 6 meses após confirmação diagnóstica (saída do laudo da citologia/biópsia) não houve diferença estatística

significativa entre os grupos exceto com o TTPa ($p=0,042$) (significativo) (Figura 3).

Figura 3 - Relação do número de óbitos em 6 meses após confirmação de hepatopatia em comparação aos parâmetros hemostáticos. A diferença estatisticamente significativa é indicada quando $p=0,042$ no TTPa (*).



Dentre o total de animais avaliados no grupo hepatopata ($n=77$), 5 animais tiveram aumento de Dímero-D e hipofibrinogenemia e todos foram a óbito em 6 meses após o diagnóstico.

7. DISCUSSÃO

No presente estudo, não foram feitas nenhuma dosagem além da enzima ALT e não foram realizados dosagem de fatores de coagulação.

Em relação aos pacientes trombocitopênicos, já se sabe que é uma alteração relativamente esperada, pois diversos fatores podem contribuir para o desenvolvimento de trombocitopenia, incluindo sequestro de plaquetas esplênicas, supressão da medula óssea por conta de reduções no nível ou

atividade do fator de crescimento hematopoiético trombopoietina (TPO) (AFDHAL et., 2014) e, até mesmo por CIVD (TER MEULERN et al., 2004).

Não houve diferença significativa ($p=0,072$) no TP e D-dímero ($p=0,441$) no grupo hepatopata em relação ao grupo controle, mas houve no TTPa e fibrinogênio ($p<0,001$), corroborando com o estudo de Mendonça (2004), onde foi observada alteração no TTPa precedendo a alteração no TP em quatro animais. A literatura cita alguns estudos que obtiveram esses mesmos resultados em cães com doenças hepáticas crônicas. A possibilidade de justificá-la, segundo os autores, seria a deficiência do fator VII ou XII e a hemoconcentração (GREEN, 1981; BADYLAK et al., 1983; LISCIANDRO et al., 1998; PRATER, 2000).

A deficiência de fator XII realmente ocasionaria um aumento do TTPa sem alterar o TP, mas a deficiência de fator XII por incapacidade funcional hepática, deveria antes diminuir o fator VII, que possui a meia vida mais curta (4 a 6 horas) dentre os fatores produzidos pelos hepatócitos de gatos, cães e humanos (Badylak et al., 1983; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano et al, 2002), o que também levaria a um TP prolongado. No presente estudo não foi realizada avaliação de fatores de coagulação isolados, daí a dificuldade em confirmar esta hipótese. Haveria possibilidade de erros pré-analíticos que justificassem, porém não houve hemoconcentração e a proporção de anticoagulante e sangue foi rigorosamente respeitada.

Ao comparar o efeito da intensidade da elevação da ALT nos parâmetros hemostáticos, notou-se diferença significativa ($p=0,011$) entre o grupo hepatopata com elevação discreta e intensa da ALT sob TP, mas isso não foi observado em relação ao TTPa ($p=0,399$), fibrinogênio ($p=0,15$) e D-dímero ($p=0,256$). Tais resultados são compatíveis com achados de estudos anteriores com humanos, cães e gatos (BADYLAK & VANVLEE, 1981; BADYLAK et al., 1983; DILL MACKY, 1995; PARRY, 1989; DODDS, 1997; PRATER, 2000; VIGA e GEORGE, 2001; AMITRANO et al., 2002; BAKER, 2004) e confirmaram que houve alterações laboratoriais importantes na hemostasia secundária (coagulograma) no grupo de animais com doença hepática. Isso pode ser um indício de que pacientes com ALT intensa, necessitam de avaliação de parâmetros relacionados ao coagulograma. Embora esses estudos tenham sido realizados há alguns anos, os resultados de alguns dos testes ainda são

relevantes hoje porque as metodologias permanecem relativamente inalteradas e os testes ainda estão em uso.

Outro estudo realizado por Bandeira et al. (2014), também perceberam o mesmo resultado em que indivíduos que apresentavam TP e INR elevado também foi realizada a correlação com ALT, encontraram 64,58% de ALT aumentada juntamente com TP e 60,8% de ALT elevada relacionada ao INR aumentado estando associada a uma disfunção na hemostasia secundária na via extrínseca. Ou seja, a dosagem de ALT juntamente com os tempos de coagulação deve ser levado em consideração na hora da avaliação do doente hepático.

Vale ressaltar que um tempo de protrombina (TP) prolongado isolado é o teste de coagulação mais comumente observado em pacientes com doença hepática. À medida que a doença progride, os tempos muitas vezes se prolongam destacando mais uma vez sua importância na rotina clínica (VALERIE, 2009).

Pesquisadores buscaram correlacionar parâmetros bioquímicos com a relação AST/ALT de pacientes com hepatite crônica de origem viral (Karim et al., 2015). O que se observou na apresentação dos resultados foram valores elevados de AST, ALT, bilirrubina total e tempo de protrombina, com uma relação AST/ALT de 0,72 (0,33 - 1,07). No mesmo estudo concluíram haver correlação positiva entre AST/ALT ($>1,0$) e o aumento do tempo de protrombina, com alto valor preditivo positivo para detecção de cirrose hepática, novamente sendo possível reconhecer que é imprescindível a utilização da dosagem bioquímica em conjunto com os tempos de coagulação (Karim et al., 2015).

Quando comparado os parâmetros de TP, TTPa, Fibrinogênio, D-dímero ($p=0,008$) e ALT ($p<0,001$) em relação aos diferentes diagnósticos de hepatopatia, verificou-se diferença estatística ($p<0,001$) o que nos remete que, independente da causa base da hepatopatia, o uso concomitante de exames de triagem como a ALT e exames de coagulação (TP, TTPa, Fibrinogênio e Dímero-D) devem fazer parte do paciente com hepatopatia.

Estudos que avaliavam os testes diagnósticos de CID em 205 cães, e outro estudo com 100 cães, demonstraram que essa combinação de testes tiveram uma acurácia de 100%, com sensibilidade de 73% e especificidade de 97% em um dos estudos e em outro com 90% de sensibilidade e 90% de

especificidade para o diagnóstico correto, e propuseram um modelo parecido com o humano (WIINBERG et al., 2010; MACHIDA et al., 2010). É necessário no mínimo três testes laboratoriais de hemostasia alterados para que o diagnóstico possa ser realizado (WADA et al., 2003). Pode-se incluir nos testes contagem plaquetária, TP, TTPa, concentração de fibrinogênio, PDFs, e níveis do Dímero D. Neste estudo, não foram realizados avaliação dos PDFs, mas podemos incluir que 5 pacientes atendiam os critérios de CID (trombocitopenia, diminuição de fibrinogênio, Dímero D aumentado, além de alterações em TP e TTPa).

Em humanos, a International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) desenvolveu os primeiros modelos simples de diagnóstico de CID. Eles também têm sido baseados nos testes hemostáticos (TP, TTPa, Dímero D, contagem de plaquetas e fibrinogênio), e sua acurácia diagnóstica já é comprovada (BAKHTIARI et al., 2004; TOH; DOWNEY, 2005; TOH; HOOTS, 2007). Em diversos estudos de CID em cães, o TP e TTPa prolongados ($\geq 25\%$ que o valor de referência) foram identificados em 67% a 82% dos casos (MADDEN; WARD; MARLAR, 1987; BATEMAN; MATHEWS; ABRAMS-OGG, 1998; DIEHL et al., 2000).

Na análise individual na ALT foi percebido que houve diferença apenas entre os grupos: Controle e hepatite difusa; Controle e shunt; Controle e hemangiossarcoma, sem diferença entre os demais subgrupos, o que reforça a ideia de ser o exame de triagem de escolha para detecção de possíveis doenças hepáticas em cães (WEBSTER et al. 2019).

Em relação ao prognóstico, houve diferença estatística significativa em 6 meses apenas para o TTPa, isso significa que dos animais que deram TTPa aumentados, a maioria foi a óbito em 6 meses, mas deve-se levar em consideração a limitação do período e perdas de informações após esta data, sendo necessário mais estudos e um período de avaliação mais rigoroso e longo.

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

Dentre o total de animais avaliados no grupo hepatopata, 5 animais tiveram aumento de Dímero-D e hipofibrinogenemia e todos foram a óbito em 6 meses após o diagnóstico. O fato destes testes não estarem alterados na estatística em conjunto por conta de o N ser muito baixo, não exclui o risco de piora clínica (BROOKS e LAFORCADE, 2010).

O grande risco de óbito nesses casos está relacionado com variedade de alterações no sistema hemostático, que torna a confirmação diagnóstica de hepatopatia fundamental em conjunto com os exames de coagulação em todos os pacientes (TAPPER; PARIKH, 2018). A escassez de estudos que confirmam hepatopatia e avaliam a coagulação sanguínea com testes convencionais, torna a necessidade de mais estudos acerca deste modelo experimental que é o paciente hepatopata.

8. CONCLUSÕES

Conclui-se que existe correlação entre coagulopatia em cães com doenças hepáticas de diferentes etiologias e que o coagulograma é essencial na avaliação de cães com doenças hepáticas, principalmente na avaliação de TTPa. A ALT desempenhou um papel muito importante no rastreio destes pacientes, tornando-se essencial na avaliação. O Dímero – D, dosagem de fibrinogênio e avaliação de plaquetas devem ser considerados nestes pacientes afim de descartar quadros de CIVD e possível pior prognóstico.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMITRANO, L.; GUARDASCIONE, M.A.; BRANCACCIO, V.; BALZANO, A. coagulation disorders in liver disease. **Semin. Liver Dis.**, New York, v.22, n.1, p.83-96, feb. 2002.

BADYLAK, S.F.; DODDS, W.J.; VAN VLEET, J.F. Plasma coagulation factor abnormalities in dogs with naturally occurring hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.44, n.12, p.2336-2340, dec. 1983.

BADYLAK, S.F.; VAN VLEET, J.F. Alterations of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in dogs with hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.42, n.12, p.2053-2056, dec. 1981.

BANDEIRA, S. M. F. et al. Correlação entre os níveis plasmáticos de transaminases e o tempo de protrombina em pacientes com litíase biliar. Anais CONACIS. Campina Grande: **Realize Editora**, 2014.

BARGER, A. M. Clinical Chemistry. In.: BARGER, A. M.; MACNEILL, A. L. Clinical Pathology and Laboratory Techniques for Veterinary Technicians. Iowa: **Wiley-Blackwell**, cap.4, p. 115-123. 2015.

BARROS, C. S. L. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino. In.: SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. Patologia veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: **Roca**, cap. 4, p. 308-265 459. 2016.

BEXFIELD, N. H.; BUXTON, R. J.; VICEK, T. J.; DIA, M. J. Breed, age and gender distribution of dogs with chronic hepatitis in the United Kingdom. **The Veterinary Journal**, v. 193, p. 124–128. 2012.

DIAL, S. M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **Vet. Clin North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.257-273, mar. 1995.

DIIL-MACKY. Chronic hepatitis in dogs. **Vet. Clin North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.387-397, 1995.

DIRCKS, B.; NOLTE, I.; MISCHKE, R. Haemostatic abnormalities in cats with naturally occurring liver diseases. **The Veterinary Journal**. v. 193, p. 275 103-108, 2012.

DODDS, W.J. Hemostasis. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. 277 Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. New York: **Academic Press**,

1997. cap.10, p. 241-283.

EBY, C.S.; JOIST, J.H. Hemostatic abnormalities in liver disease. In: Colman RW, Marder VJ, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ, editors. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 1025-33.

FRY, L.C.et al. Thromboelastography in Dogs with Chronic Hepatopathies. Journal of Veterinary Internal Medicine, v (31), p. :419-426, 2017.

GREEN, R.A. Hemostasis and disorders of coagulation. Vet. **Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.11, n.2, p.289-319, may. 1981.

HARVEY, J.W.; BRUSS. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. New York: **Academic Press**, 1997. cap.5, p.117-138.

HUGHES, D.; KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dogs and cats. Vet. Clin. North Am. **Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.437- 459, mar. 1995.

JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: **Lea & Febiger**, p. 417, 1993.

JOIST, J.H.: GEORGE, J.N. Hemostatic abnormalities in liver and renal disease. In: COLMAN, R.W.; HIRSH, J.; MARDER, V.J.; CLOWES, A.W.; GEORGE, J. N. Thrombosis and hemostasis: basic principles and clinical practice. 4.ed. Baltimore: **Lippincott Williams & Wilkins**, 2001. cap.58, p.955-973.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; LASSEN, E.D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.; WIESER, G. Veterinary hematology and clinical chemistry. Baltimore: **Lippincott Williams & Wilkins**, 2004. cap. 23, p.355-375.

LISCIANDRO, S.C.; HOHENHAUS, A.; BROOKS, M. Coagulation abnormalities in 22 cats with naturally occurring liver disease. **J. Vet. Intern. Med.**, v.12, p. 71-299 75, 1998.

MENDONÇA, A. J. **Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doença hepática**. 2004. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Veterinary laboratory medicine. interpretation & diagnosis. 2.ed. Philadelphia: W.B. **Saunders Company**, 2004. 373p.

NORTHUP, P.G.; CALDWELL, S.H. Coagulation in Liver Disease: A Guide for the Clinician. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. v. 11, p. 1064-1074, 2013.

PARRY, B. W. Laboratory evaluation of hemorrhagic coagulopathies in small animal practice. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.** Philadelphia, v.19, n.4, 311 p.729-743, july. 1989.

PEDROSO, C. K.; MAESTRI, J. S. Hepatite crônica. *Scientia Rural*, v. 19, p.1-9. 2019. Practice Guidelines for blood component therapy: a report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. **Anesthesiology**. v. 84, n. 3, p. 732-47, 1996.

PRATER, M.R. Acquired coagulopathy I: avitaminosis K. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5.ed. Baltimore: **Lippincott Williams & Wilkins**, 2000a. cap.81, p.556-559.

REZENDE, S.M. Distúrbios da hemostasia: distúrbios hemorrágicos. **Revista de Medicina Minas Gerais**. V.20, n. 4, p. 534-553, 2010.

RIZZATTI, E.G.; FRANCO, R. F. Investigação diagnóstica dos distúrbios hemorrágicos. **Medicina**, Ribeirão Preto. v.34, p.238-247, 2001.

SPECTOR, I. CORN, M. Laboratory tests of hemostasis. The relation to hemorrhage in liver disease. **Arch Intern Med**. v. 119, n. 6, p. 577-582, 1967;

STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Fundamentals of veterinary clinical pathology. Iowa: **Iowa State Press**, 2002. chap. 5, p.155-255.

STOTTS, M.J.; DAVIS, J.P.E.; SHAH, N.L. Coagulation testing and management 328 in liver disease patients. **Curr Opin Gastroenterol**. v. 36, n. 3, p. 169-176, 2020.

TENNANT, B.C. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic 331 Press, 1997. cap.13, p.327-352.

TER MEULEN, J. et al. Activation of the cytokine network and unfavorable outcome in patients with yellow fever. *J Infect Dis*. n. 190, n. 10, p. 1821-7, 2004.

CAPÍTULO 3

10. TRABALHO CIENTÍFICO

Trabalho Científico (Conforme as normas da revista Acta Scientiae Veterinariae)

Acta Scientiae Veterinariae

RESEARCH ARTICLE

Avaliação do coagulograma em cães com hepatopatia

Susana Eduardo Vieira^{1*}, Letícia Gondim Souto¹, Paulo Fernandes Marcusso¹, Regina
Kiomi Takahira¹

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ, UNESP), Botucatu, SP, Brasil. CORRESPONDÊNCIA: S.E. Vieira [susana.vieira@unesp.br]. FMVZ, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP). Rua Dr. Valter Maurício Corrêa, S/N – Jardim São José, Campus de Botucatu. CEP 18618-681 Botucatu, SP, Brasil.

RESUMO

Background: Serum Alanine aminotransferase (ALT) activity has been used to measure liver damage in small animals. When it comes to assessing liver damage, Prothrombin Time (PT) and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) are considered sensitive indicators of liver disease in dogs. Some studies have shown that PT is a better prognostic marker for serum levels of bilirubin, transaminases or albumin in humans with acute liver disease. That said, it can be inferred that hemostatic disorders are important and highly lethal complications in patients with liver disease, that is, it is considered relevant for medical science to study diagnostic methods that allow the early identification of changes in blood coagulation in dogs with liver disease. liveropathy. That said, the objective of this work was to evaluate the presence of coagulopathy associated with liver disease using

1 conventional coagulation tests (prothrombin time, activated partial thromboplastin time,
2 fibrinogen and D-dimer).

3 **Material, Methods and Results:** 117 dogs with normal (n=40), slightly and intensely
4 increased ALT levels (n=77) were used. Samples were collected from the jugular vein
5 (EDTA tube, sodium citrate tube and tube with clot activator) after approval of clinical
6 management according to the patient's needs and sent to the laboratory for analysis. In
7 this study, cytology/biopsy reports were accessed for statistical analysis, and clinical
8 conduct was not questioned. In the results, it was seen that in relation to the effect of
9 liver disease on hemostatic parameters, there is a significant difference ($p<0.001$)
10 between the ALT of the control group and patients with liver disease. There was no
11 significant difference ($p=0.072$) in PT and D-dimer ($p=0.441$) in the liver group in
12 relation to the control group, but there was in aPTT and fibrinogen ($p<0.001$). When
13 comparing the effect of the intensity of ALT elevation on hemostatic parameters, a
14 significant difference ($p=0.011$) was noted between the hepatic group with mild and
15 intense ALT elevation under PT, but this was not observed in relation to aPTT ($p=0.399$),
16 fibrinogen ($p=0.15$) and D-dimer ($p=0.256$).

17 **Discussion:** There was no significant difference ($p=0.072$) in PT and D-dimer ($p=0.441$)
18 in the liver group in relation to the control group, but there was no aPTT and fibrinogen
19 ($p<0.001$), corroborating the study by Mendonça (2004), where changes in aPTT were
20 observed preceding changes in PT in four animals. The literature cites some studies that
21 obtained these same results in dogs with chronic liver diseases. The possibility of
22 justifying it, according to the authors, would be factor VII or XII deficiency and
23 hemoconcentration. (GREEN, 1981; 173 BADYLAK et al., 1983; LISCIANDRO et al.,
24 1998; PRATER, 2000). In the present study, no evaluation of isolated clotting factors was
25 carried out, hence the difficulty in confirming this hypothesis. There was no

1 hemoconcentration in this study and the proportion of anticoagulant and blood was
2 strictly respected.

3 **Keywords:** liver; coagulation; canine;

4 INTRODUÇÃO

5 A atividade sérica da Alanina aminotransferase (ALT) tem sido utilizada para a
6 mensuração de dano hepático, sendo considerado um dos melhores testes para este fim
7 em pequenos animais (principalmente cães), pois seu aumento está relacionado com a
8 extensão da lesão (ALLISSON, 2015).

9 Em se tratando da avaliação de dano hepático, temos em conjunto com a ALT, o
10 TP e TTPa que são considerados sensíveis indicadores de doença hepática em cães
11 (BADYLAK & VAN VLEET, 1981; GREEN, 1981; BADYLAK et al., 1983; PARRY,
12 1989), gatos (HUGHES e KING, 1995; LISCIANDRO et al., 1998) e humanos (JOIST
13 & GEORGE, 2001; AMITRANO et al., 2002). Desta forma, doenças hepáticas podem
14 prolongar o TP e o TTPa.

15 Alguns estudos apontaram que o TP se apresentava como um melhor marcador
16 prognóstico do que os níveis séricos de bilirrubina, transaminases, ou albumina em
17 humanos com doença hepática aguda (JOIST & GEORGE, 2001; AMITRANO et al.,
18 2002), ou seja, o TP é o mais sensível ao dano hepático, mostrando-se alterado nas fases
19 iniciais da doença (RIZZATTI & FRANCO, 2001; REZENDE, 2010), desse modo há
20 importância da correlação da enzima ALT com o TP e TTPa.

21 De acordo com Thrall et al. (2015), animais com dano hepático podem apresentar
22 distúrbios na hemostasia, em vários testes de coagulação, além disso a menor função
23 plaquetária pode estar associada a problemas hepáticos. Além disso, muitos autores
24 consideram que o aumento acentuado da atividade sérica da ALT em cães é altamente
25 sugestivo de intensa destruição hepática, com estudos afirmando haver estreita correlação
26 entre atividade enzimática sérica e alterações histopatológicas (DIAL, 1995; HUGHES
27 & KING, 1995; TENNANT, 1997; LASSEN, 2004), implicando ainda mais na hipótese
28 da correlação do aumento de ALT com os tempos de protrombina e tromboplastina parcial
29 ativada, fibrinogênio e Dímero-D, já que também fazem parte da avaliação da coagulação
30 sanguínea.

31 Isso posto, pode-se inferir que distúrbios hemostáticos são complicações
32 importantes e altamente letais em pacientes com hepatopatia, ou seja, considera-se

relevante para a ciência médica o estudo de métodos diagnósticos que permitam a identificação precoce de alterações na coagulação sanguínea em cães com hepatopatia.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de coagulopatia associada a hepatopatia por testes convencionais de coagulação (tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, fibrinogênio e Dímero D).

MATERIAL E MÉTODOS

Comitê de Ética

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), Campus Botucatu, São Paulo, sob o protocolo 000.203/2023.

Animais

Animais dos Grupos Hepatopata

Foram selecionados 77 cães atendidos no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP, Botucatu, São Paulo, e do Hospital Veterinário INOVA em Sorocaba, São Paulo, machos e fêmeas, de 2 até 9 anos, que apresentaram dosagem de ALT aumentada que, após avaliação clínica e resultado de ultrassom (hepatomegalia), foi sugerido um quadro de hepatopatia. Durante a consulta clínica, foi avaliado a necessidade de mais exames complementares a fim de confirmar hepatopatia existente e sua causa, sendo utilizado citologia ou biópsia hepática dependendo da suspeita e conduta clínica escolhida pelo Médico Veterinário responsável pelo caso. Os resultados dos exames foram tabulados e separados de acordo com a escolha do exame confirmatório. Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste estudo.

O grupo hepatopata foi subdividido de acordo com os valores de ALT em dois grupos: discretamente aumentados (até 250 UI/L) e intensamente aumentados (acima de 250 UI/L).

1 Foram excluídos do grupo hepatopata os animais que não tinham ALT aumentada,
2 os que não tinham ultrassonografia observando hepatomegalia ou que não fizeram
3 biópsia/citologia para confirmação da origem da hepatopatia.

4

5 **Animais do Grupo Controle**

6

7 Foram selecionados 40 cães hígidos do Banco de Sangue Canino do Laboratório
8 Clínicos Veterinário (LCV), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ)
9 da UNESP, Botucatu, São Paulo, que passaram por exames físicos e clínicos, bem como
10 anamnese, exames como hemograma, bioquímica sérica e coagulograma (TP, TTPa,
11 fibrinogênio e Dímero-D).

12 Foram excluídos do grupo controle todos os animais com idade inferior a 1 ano e
13 superior a 8 anos (idade segura para serem doadores de sangue), histórico de doenças
14 anteriores e os que apresentaram qualquer alteração clínica ou em exames laboratoriais.
15 Os tutores foram consultados, informados e esclarecidos de todos os detalhes deste
16 estudo.

17 **Identificação dos cães em hepatopatia**

18 **Triagem**

19

20 No momento do atendimento clínico, os animais foram triados por meio dos sinais
21 clínicos de suspeita de hepatopatia como icterícia, perda de apetite, dor abdominal ou uso
22 de medicamentos que afetam o funcionamento hepático (exemplo: fenobarbital) e
23 encaminhados a exames complementares como bioquímica sérica e ultrassonografia
24 abdominal.

25 **Confirmação de hepatopatia**

26

27 Para a confirmação dos cães com hepatopatia, foi utilizado os resultados da
28 ultrassonografia com hepatomegalia, citologia ou biópsia hepática confirmando
29 diagnóstico de hepatopatia e sua origem para posterior correlação com a dosagem de
30 ALT.

31 **Colheita dos exames laboratoriais**

32

1 Foi colhido cerca de 5,0 mL de sangue total por venopunção única da jugular
2 externa usando um tubo à vácuo contendo anticoagulante Ácido Etileno-Diamino-
3 Tetraacético (EDTA K3) a 7,5% para hemograma (usado 2,0 mL) e um tubo seco para
4 as análises bioquímicas (1,0 mL). Para avaliação hemostática, o sangue foi coletado em
5 tubo à vácuo contendo citrato de sódio a 3,2% (usado 2,0 mL). As amostras de sangue
6 total citratado destinadas ao coagulograma foram submetidas à análise 60 minutos após a
7 colheita. O plasma pobre de plaquetas (PPP) obtido após a centrifugação do sangue
8 citratado foram imediatamente separados em duas alíquotas, congelados e armazenados
9 em freezer (-80 °C) até a análise dos testes de tempo de protrombina (TP), tempo de
10 tromboplastina parcial ativado (TTPa), Dímero D e fibrinogênio.

11 **Hemograma**

12

13 A contagem de glóbulos vermelhos, leucócitos totais, plaquetas e hemoglobina,
14 bem como o volume corpuscular médio (VCM), o volume corpuscular médio
15 concentração de hemoglobina (MCHC), volume plaquetário médio (MPV) e eritrócitos
16 de largura de distribuição (RDW) foirealizada em um balcão veterinário automatizado
17 sistema celular (Celltac®, Nihon Kohden)). O volume globular (VG) foi determinado
18 usando o método microcapilar Strumia (11.400 rpm por 5 minutos). A contagem
19 diferencial de leucócitos, juntamente com avaliação morfológica de glóbulos vermelhos
20 células, leucócitos e plaquetas, bem como a estimativa de plaquetas por campo de 1.000x,
21 foi realizado em um esfregaço de sangue corado com corante hematológico comercial
22 (Instant-Prov, Newprov, Pinhais, PR, Brasil), seguindo as recomendações de Jain (1986).

23 Em caso de inconsistência com a avaliação do esfregaço, a contagem de plaquetas
24 foi realizada com hemocítômetro de acordo com a metodologia anterior descrita
25 (BRECHER; CRONKITE, 1950).

26 **Dosagens bioquímicas**

27

28 O soro foi obtido centrifugando o sangue após a coleta. A avaliação da bioquímica
29 sérica foi realizada em um dispositivo bioquímico automatizado (Roche® - Cobas Mira
30 Plus) utilizando kits (Bioclin® e Labtest®) de acordo com as recomendações do
31 fabricante. A análise bioquímica incluiu a alanina aminotransferase (ALT) como foco
32 principal do trabalho.

1 **Coagulograma**

2

3 Para obtenção do plasma, os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos
4 e os testes de coagulação foram realizados de forma semi-automatizada (CLOTimer,
5 Quick Timer, São Paulo, Brasil) utilizando um conjunto de reagentes comerciais, sempre
6 em duplicado. A avaliação do TP consistiu em medir o tempo de coagulação plasmática
7 após a adição de uma fonte de fator tecidual (tromboplastina) e cálcio, resultando na
8 formação do coágulo de fibrina, de acordo com as recomendações do fabricante (TP Clot,
9 BIOS Diagnóstica, São Paulo, Brasil). A avaliação do TTPa consistiu em determinar o
10 tempo de coagulação plasmática após a adição de um reagente com ativador plasmático
11 (ácido elágico) e fosfolipídios (substitutos plaquetários), incubação para ativação e
12 subsequente recalcificação da amostra, até a formação do coágulo, de acordo com as
13 recomendações. (Coágulo TTPa, BIOS Diagnóstica, São Paulo, Brasil).

14 **Fibrinogênio**

15 O método Clauss foi usado para medir o fibrinogênio, que mede a taxa de conversão de
16 fibrinogênio em fibrina em um plasma diluído na presença de excesso de trombina. Foi
17 realizado de forma semi-automatizada (CLOTimer, QuickTimer, São Paulo, Brasil) de
18 acordo com as recomendações do fabricante (Fibrinogênio Clot, BIOS Diagnóstica, São
19 Paulo, Brasil).

20 **Dímero D**

21 O D-Dímero foi feito por teste de imunoensaio fluorescente para medição
22 quantitativa do nível em amostras de plasma em um tubo de citrato. Sendo medido em
23 equipamento da marca teste (ECO Diagnóstica).

24

25 **Exames complementares**

26 Não houve critério de inclusão para uso específico da citologia ou biópsia, sendo
27 discutida a conduta clínica de forma individual. No presente estudo, foi utilizado apenas
28 o laudo disponibilizado com o objetivo de confirmação da hepatopatia.

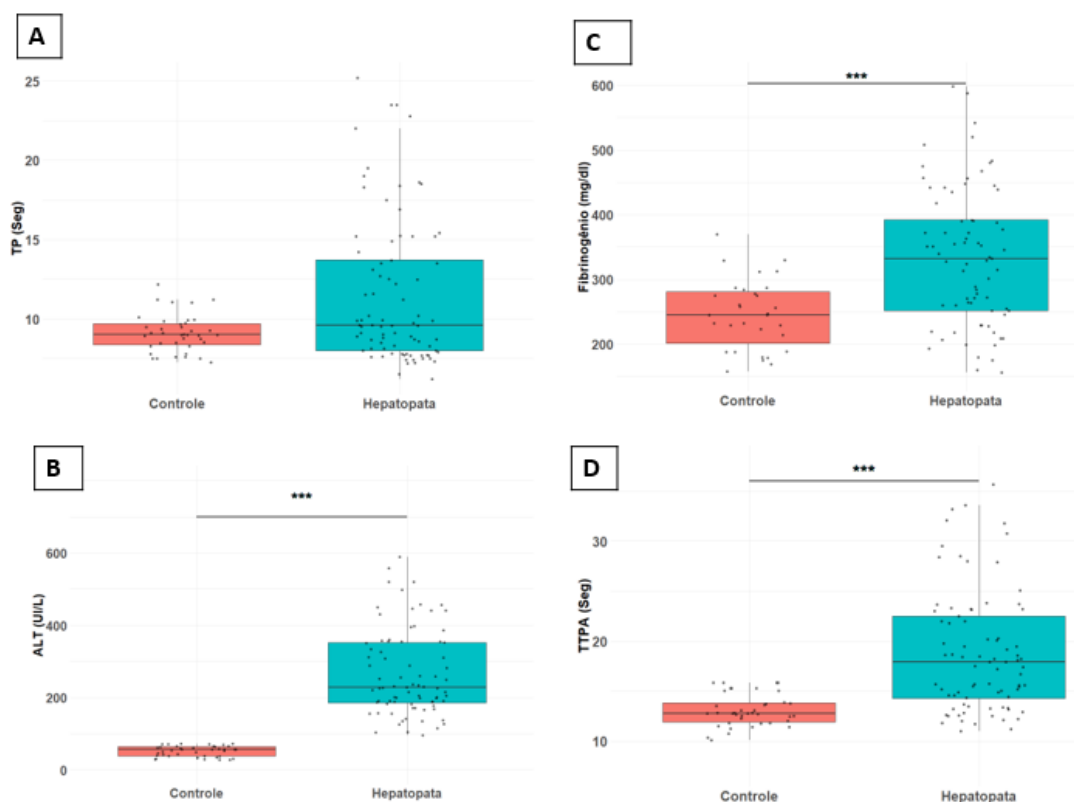
29 A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kruskal Wallis seguido do
30 teste de Dunn, e o teste Mann-Whitney foi utilizado para comparar dados não
31 paramétricos. Em todas as análises a significância estatística foi estabelecida em um valor
32 de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Dos 77 animais usados no estudo, 27 foram diagnosticados por meio de citologia hepática e o restante (50) foram por meio de biópsia. As etiologias encontradas foram: carcinoma hepático (18), degeneração hepatocelular (17), hepatite crônica (10), hepatopatia medicamentosa por meio do fenobarbital (8), shunt (8), hemangiossarcoma (8), insuficiência crônica (4) e hepatite difusa (4).

Nos resultados, foi visto que em relação ao efeito da doença hepática nos parâmetros hemostáticos, foi observado que pacientes hepatopatas apresentavam valores de ALT superiores ao grupo controle ($p < 0,001$). O grupo hepatopata teve valores maiores de TTPa e fibrinogênio ($p < 0,001$), porém sem aumento significativo ($p = 0,072$) no TP e no dímero D ($p = 0,441$) em relação ao grupo controle.

Figura 1 - TP (A), ALT (B), Fibrinogênio (C) e TTPa (D) do grupo hepatopatas em relação ao grupo controle. A diferença estatisticamente significante é indicada por $p < 0,001$ (****) na ALT, TTPa e fibrinogênio.

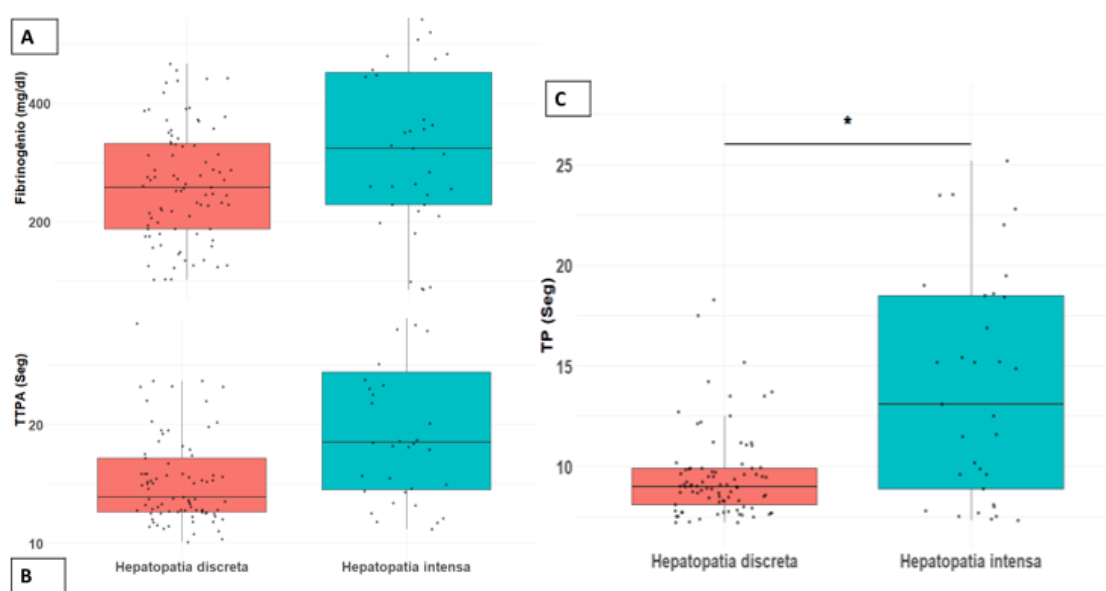


1 Dos 77 animais, todos apresentaram trombocitopenia, sendo 48 (62,33%)
 2 trombocitopenia moderada (média 80.000/ μ L) e 29% (37,67%) trombocitopenia intensa
 3 (abaixo de 30 mil/ μ L). (KANEKO et al., 1997).

4 Ao comparar o efeito da intensidade da elevação da ALT em relação aos parâmetros
 5 hemostáticos, foi observada diferença significativa ($p=0,011$) (Figura 2) entre os grupos
 6 de doença hepática com elevação leve e intensa de ALT sob TP, mas isso não foi
 7 observado em relação ao TTPa ($p=0,399$), fibrinogênio ($p=0,15$) e D-dímero ($p=0,256$).

8

9 **Figura 2** - Fibrinogênio (A), TTPa (B), TP (C) do grupo hepatopatia discreta (discreto
 10 aumento de ALT) em comparação ao grupo hepatopatia intensa (intensa elevação de
 11 ALT). A diferença estatisticamente significativa é indicada por $p=0,011$ (*) no TP.



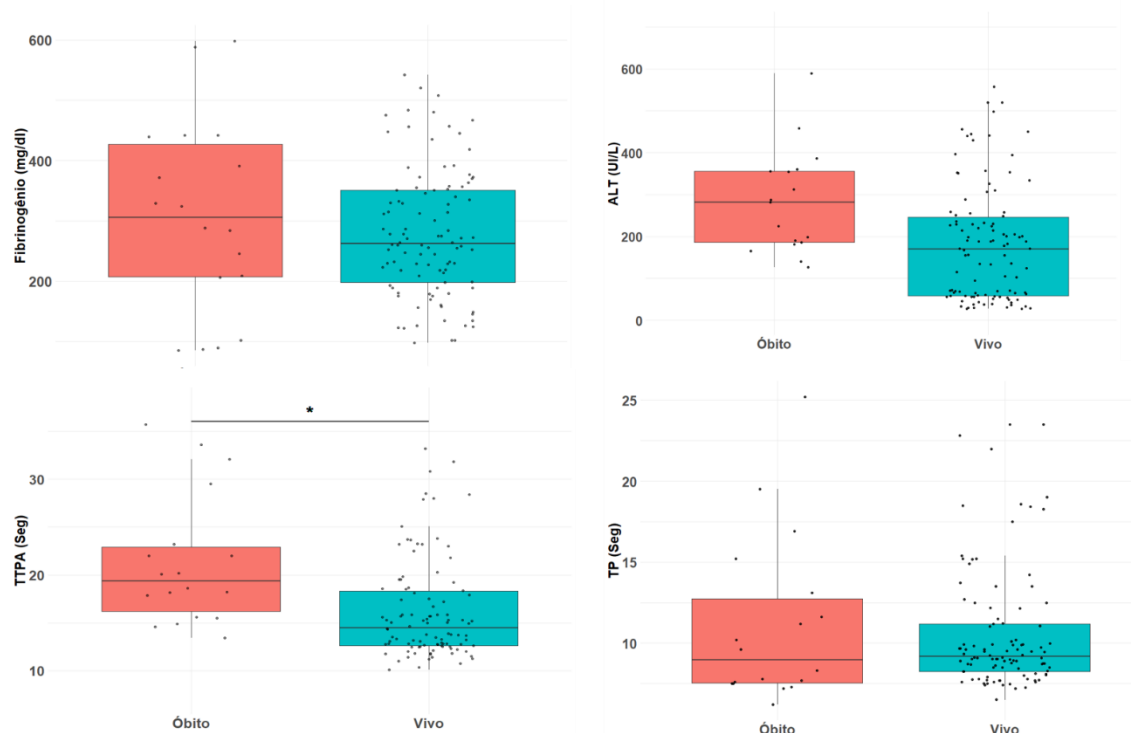
12

13 Houve diferença estatística ($p<0,001$) entre os parâmetros de TP, TTPa, Fibrinogênio, D-
 14 dímero ($p=0,008$) e ALT ($p<0,001$) em relação a hepatopatia, porém quando analisado as
 15 etiologias de formas isoladas não houve diferença entre os grupos. Na análise individual
 16 na ALT houve diferença apenas entre os grupos: Controle e hepatite difusa; Controle e
 17 shunt; Controle e hemangiossarcoma, sem diferença entre os outros subgrupos.

18 Com relação aos óbitos em um período de 6 meses após confirmação diagnóstica (saída
 19 do laudo da citologia/biópsia) não houve diferença estatística significativa entre os grupos
 20 exceto com o TTPa ($p=0,042$) (significativo) (Figura 3).

21

Figura 3 - Relação do número de óbitos em 6 meses após confirmação de hepatopatia em comparação aos parâmetros hemostáticos. A diferença estatisticamente significativa é indicada quando $p=0,042$ no TTPa (*).



Dentre o total de animais avaliados no grupo hepatopata ($n=77$), 5 animais tiveram aumento de Dímero-D e hipofibrinogenemia e todos foram a óbito em 6 meses após o diagnóstico.

DISCUSSÃO

No presente estudo, não foram feitas nenhuma dosagem além da enzima ALT e não foram realizados dosagem de fatores de coagulação.

Em relação aos pacientes trombocitopênicos, já se sabe que é uma alteração relativamente esperada, pois diversos fatores podem contribuir para o desenvolvimento de trombocitopenia, incluindo sequestro de plaquetas esplênicas, supressão da medula óssea por conta de reduções no nível ou atividade do fator de crescimento hematopoiético trombopoietina (TPO) (AFDHAL et., 2014) e, até mesmo por CIVD (TER MEULERN et al., 2004).

1 Não houve diferença significativa ($p=0,072$) no TP e D-dímero ($p=0,441$) no
2 grupo hepatopata em relação ao grupo controle, mas houve no TTPa e fibrinogênio ($p<$
3 $0,001$), corroborando com o estudo de Mendonça (2004), onde foi observada alteração no
4 TTPa precedendo a alteração no TP em quatro animais. A literatura cita alguns estudos
5 que obtiveram esses mesmos resultados em cães com doenças hepáticas crônicas. A
6 possibilidade de justificá-la, segundo os autores, seria a deficiência do fator VII ou XII e
7 a hemoconcentração. (GREEN, 1981; 173 BADYLAK et al., 1983; LISCIANDRO et al.,
8 1998; PRATER, 2000).

9 A deficiência de fator XII realmente ocasionaria um aumento do TTPa sem alterar
10 o TP, mas a deficiência de fator XII por incapacidade funcional hepática, deveria antes
11 diminuir o fator VII, que possui a meia vida mais curta (4 a 6 horas) dentre os fatores
12 produzidos pelos hepatócitos de gatos, cães e humanos (Badylak et al., 1983; Prater, 2000;
13 Joist & George, 2001; Amitrano et al, 2002), o que também levaria a um TP prolongado.
14 No presente estudo não foi realizada avaliação de fatores de coagulação isolados, daí a
15 dificuldade em confirmar esta hipótese. Haveria possibilidade de erros pré-analíticos que
16 justificassem, porém não houve hemoconcentração e a proporção de anticoagulante e
17 sangue foi rigorosamente respeitada.

18 Ao comparar o efeito da intensidade da elevação da ALT nos parâmetros
19 hemostáticos, notou-se diferença significativa ($p=0,011$) entre o grupo hepatopata com
20 elevação discreta e intensa da ALT sob TP, mas isso não foi observado em relação ao
21 TTPa ($p=0,399$), fibrinogênio ($p=0,15$) e D-dímero ($p=0,256$). Tais resultados são
22 compatíveis com achados de estudos anteriores com humanos, cães e gatos (BADYLAK
23 & VANVLEE, 1981; BADYLAK et al., 1983; DILL MACKY, 1995; PARRY, 1989;
24 DODDS, 1997; PRATER, 2000; VIGA e GEORGE, 2001; AMITRANO et al., 2002;
25 BAKER, 2004) e confirmaram que houve alterações laboratoriais importantes na
26 hemostasia secundária (coagulograma) no grupo de animais com doença hepática. Isso
27 pode ser um indicio de que pacientes com ALT intensa, necessitam de avaliação de
28 parâmetros relacionados ao coagulograma. Embora esses estudos tenham sido realizados
29 há alguns anos, os resultados de alguns dos testes ainda são relevantes hoje porque as
30 metodologias permanecem relativamente inalteradas e os testes ainda estão em uso.

31 Outro estudo realizado por Bandeira et al. (2014), também perceberam o mesmo
32 resultado em que indivíduos que apresentavam TP e INR elevado também foi realizada a
33 correlação com ALT, encontraram 64,58% de ALT aumentada juntamente com TP e
34 60,8% de ALT elevada relacionada ao INR aumentado estando associada a uma disfunção

1 na hemostasia secundária na via extrínseca. Ou seja, a dosagem de ALT juntamente com
2 os tempos de coagulação de deve ser levado em consideração na hora da avaliação do
3 doente hepático.

4 Vale ressaltar que um tempo de protrombina (TP) prolongado isolado é o teste de
5 coagulação mais comumente observado em pacientes com doença hepática. À medida
6 que a doença progride, os tempos muitas vezes se prolongam destacando mais uma vez
7 sua importância na rotina clínica (VALERIE, 2009).

8 Pesquisadores buscaram correlacionar parâmetros bioquímicos com a relação
9 AST/ALT de pacientes com hepatite crônica de origem viral (Karim et al., 2015). O que
10 se observou na apresentação dos resultados foram valores elevados de AST, ALT,
11 bilirrubina total e tempo de protrombina, com uma relação AST/ALT de 0,72 (0,33 -
12 1,07). No mesmo estudo concluíram haver correlação positiva entre AST/ALT (>1,0) e o
13 aumento do tempo de protrombina, com alto valor preditivo positivo para detecção de
14 cirrose hepática, novamente sendo possível reconhecer que é imprescindível a utilização
15 da dosagem bioquímica em conjunto com os tempos de coagulação (Karim et al., 2015).

16 Quando comparado os parâmetros de TP, TTPa, Fibrinogênio, D-dímero
17 ($p=0,008$) e ALT ($p<0,001$) em relação aos diferentes diagnósticos de hepatopatia,
18 verificou-se diferença estatística ($p<0,001$) o que nos remete que, independente da causa
19 base da hepatopatia, o uso concomitante de exames de triagem como a ALT e exames de
20 coagulação (TP, TTPa, Fibrinogênio e Dímero-D) devem fazer parte do paciente com
21 hepatopatia.

22 Estudos que avaliavam os testes diagnósticos de CID em 205 cães, e outro estudo
23 com 100 cães, demonstraram que essa combinação de testes tiveram uma acurácia de
24 100%, com sensibilidade de 73% e especificidade de 97% em um dos estudos e em outro
25 com 90% de sensibilidade e 90% de especificidade para o diagnóstico correto, e
26 propuseram um modelo parecido com o humano (WIINBERG et al., 2010; MACHIDA
27 et al., 2010). É necessário no mínimo três testes laboratoriais de hemostasia alterados para
28 que o diagnóstico possa ser realizado (WADA et al., 2003). Pode-se incluir nos testes
29 contagem plaquetária, TP, TTPa, concentração de fibrinogênio, PDFs, e níveis do Dímero
30 D.

31 Em humanos, a International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)
32 desenvolveu os primeiros modelos simples de diagnóstico de CID. Eles também têm sido
33 baseados nos testes hemostáticos (TP, TTPa, Dímero D, contagem de plaquetas e

fibrinogênio), e sua acurácia diagnóstica já é comprovada (BAKHTIARI et al., 2004; TOH; DOWNEY, 2005; TOH; HOOTS, 2007). Em diversos estudos de CID em cães, o TP e TTPa prolongados ($\geq 25\%$ que o valor de referência) foram identificados em 67% a 82% dos casos (MADDEN; WARD; MARLAR, 1987; BATEMAN; MATHEWS; ABRAMS-OGG, 1998; DIEHL et al., 2000). Neste estudo, não foram realizados avaliação dos PDFs, mas podemos incluir que 5 pacientes atendiam os critérios de CID (trombocitopenia, diminuição de fibrinogênio, Dímero D aumentado, além de alterações em TP e TTPa).

Na análise individual na ALT foi percebido que houve diferença apenas entre os grupos: Controle e hepatite difusa; Controle e shunt; Controle e hemangiossarcoma, sem diferença entre os demais subgrupos, o que reforça a ideia de ser o exame de triagem de escolha para detecção de possíveis doenças hepáticas em cães (WEBSTER et al. 2019).

Em relação ao prognóstico, houve diferença estatística significativa em 6 meses apenas para o TTPa, isso significa que dos animais que deram TTPa aumentados, a maioria foi a óbito em 6 meses, mas deve-se levar em consideração a limitação do período e perdas de informações após esta data, sendo necessário mais estudos e um período de avaliação mais rigoroso e longo.

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

Dentre o total de animais avaliados no grupo hepatopata, 5 animais tiveram aumento de Dímero-D e hipofibrinogenemia e todos foram a óbito em 6 meses após o diagnóstico. O fato destes testes não estarem alterados na estatística em conjunto por conta de o N ser muito baixo, não exclui o risco de piora clínica (BROOKS e LAFORCADE, 2010).

O grande risco de óbito nesses casos está relacionado com variedade de alterações no sistema hemostático, que torna a confirmação diagnóstica de hepatopatia fundamental em conjunto com os exames de coagulação em todos os pacientes (TAPPER; PARIKH, 2018). A escassez de estudos que confirmam hepatopatia e avaliam a coagulação sanguínea com testes convencionais, torna a necessidade de mais estudos acerca deste modelo experimental que é o paciente hepatopata.

CONCLUSÃO

Conclui-se que existe correlação entre coagulopatia em cães com doenças hepáticas de diferentes etiologias e que o coagulograma é essencial na avaliação de cães com doenças hepáticas, principalmente na avaliação de TTPa. A ALT desempenhou um papel muito importante no rastreio destes pacientes, tornando-se essencial na avaliação. O Dímero – D, dosagem de fibrinogênio e avaliação de plaquetas devem ser considerados nestes pacientes afim de descartar quadros de CIVD e possível pior prognóstico.

Aprovação Ética

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”), Campus Botucatu, São Paulo, sob o protocolo 000.023/2023.

Conflito de interesse

Os pesquisadores deste estudo não têm qualquer tipo de relacionamento pessoal ou financeiro com os indivíduos das organizações que possam influenciar ou enviesar indevidamente o conteúdo do artigo.

REFERÊNCIAS

- AMITRANO, L.; GUARDASCIONE, M.A.; BRANCACCIO, V.; BALZANO, A. coagulation disorders in liver disease. **Semin. Liver Dis.**, New York, v.22, n.1, p.83-96, feb. 2002.
- BADYLAK, S.F.; DODDS, W.J.; VAN VLEET, J.F. Plasma coagulation factor abnormalities in dogs with naturally occurring hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.44, n.12, p.2336-2340, dec. 1983.
- BADYLAK, S.F.; VAN VLEET, J.F. Alterations of prothrombin time and activated partial thromboplastin time in dogs with hepatic disease. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.42,

- 1 n.12, p.2053-2056, dec. 1981.
- 2
- 3 BANDEIRA, S. M. F. et al. Correlação entre os níveis plasmáticos de transaminases e o
- 4 tempo de protrombina em pacientes com litíase biliar. Anais CONACIS. Campina
- 5 Grande: **Realize Editora**, 2014.
- 6
- 7 BARGER, A. M. Clinical Chemistry. In.: BARGER, A. M.; MACNEILL, A. L. Clinical
- 8 Pathology and Laboratory Techniques for Veterinary Technicians. Iowa: **Wiley-**
- 9 **Blackwell**, cap.4, p. 115-123. 2015.
- 10
- 11 BARROS, C. S. L. Fígado, vias biliares e pâncreas exócrino. In.: SANTOS, R. L.;
- 12 ALESSI, A. C. Patologia veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: **Roca**, cap. 4, p. 308- 265 459.
- 13 2016.
- 14
- 15 BEXFIELD, N. H.; BUXTON, R. J.; VICEK, T. J.; DIA, M. J. Breed, age and gender
- 16 distribution of dogs with chronic hepatitis in the United Kingdom. **The Veterinary**
- 17 **Journal**, v. 193, p. 124-128. 2012.
- 18
- 19 DIAL, S. M. Clinicopathologic evaluation of the liver. **Vet. Clin North Am. Small**
- 20 **Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.257-273, mar. 1995.
- 21
- 22 DIIL-MACKY. Chronic hepatitis in dogs. **Vet. Clin North Am. Small Anim. Pract.**,
- 23 Philadelphia, v.25, n.2, p.387-397, 1995.
- 24
- 25 DIRCKS, B.; NOLTE, I.; MISCHKE, R. Haemostatic abnormalities in cats with
- 26 naturally occurring liver diseases. **The Veterinary Journal**. v. 193, p. 275 103-108,
- 27 2012.
- 28
- 29 DODDS, W.J. Hemostasis. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. 277
- 30 Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. New York: **Academic Press**, 1997.
- 31 cap.10, p. 241-283.
- 32
- 33 GREEN, R.A. Hemostasis and disorders of coagulation. **Vet. Clin. North Am. Small**
- 34 **Anim. Pract.**, Philadelphia, v.11, n.2, p.289-319, may. 1981.
- 35
- 36 HARVEY, J.W.; BRUSS. Clinical biochemistry of domestic animals. 5.ed. New York:
- 37 **Academic Press**, 1997. cap.5, p.117-138.
- 38
- 39 HUGHES, D.; KING, L.G. The diagnosis and management of acute liver failure in dogs
- 40 and cats. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.437- 459,
- 41 mar. 1995.
- 42
- 43 JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: **Lea & Febiger**, p. 417,
- 44 1993.
- 45
- 46 JOIST, J.H.; GEORGE, J.N. Hemostatic abnormalities in liver and renal disease. In:
- 47 COLMAN, R.W.; HIRSH, J.; MARDER, V.J.; CLOWES, A.W.; GEORGE, J. N.
- 48 Thrombosis and hemostasis: basic principles and clinical practice. 4.ed. Baltimore:
- 49 **Lippincott Williams & Wilkins**, 2001. cap.58, p.955-973.
- 50
- 51 KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; LASSEN,
- 52 E.D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M.A.; BAKER, D.C.;

- 1 CAMPBELL, T.W.; DeNICOLA, D.; FETTMAN, M.J.; LASSEN, E.D.; REBAR, A.;
2 WIESER, G. Veterinary hematology and clinical chemistry. Baltimore: **Lippincott**
3 **Williams & Wilkins**, 2004. cap. 23, p.355-375.
4
- 5 LISCIANDRO, S.C.; HOHENHAUS, A.; BROOKS, M. Coagulation abnormalities in
6 22 cats with naturally occurring liver disease. **J. Vet. Intern. Med.**, v.12, p. 71- 299 75,
7 1998.
8
- 9 MENDONÇA, A. J. **Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de**
10 **cães com doença hepática**. 2004. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)
11 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual
12 Paulista, Botucatu-SP.
13
- 14 MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. Veterinary laboratory medicine. interpretation &
15 diagnosis. 2.ed. Philadelphia: W.B. **Saunders Company**, 2004. 373p.
16
- 17 NORTHUP, P.G.; CALDWELL, S.H. Coagulation in Liver Disease: A Guide for the
18 Clinician. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**. v. 11, p. 1064-1074, 2013.
19
- 20 PARRY, B. W. Laboratory evaluation of hemorrhagic coagulopathies in small animal
21 practice. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.** Philadelphia, v.19, n.4, 311 p.729-
22 743, july. 1989.
23
- 24 PEDROSO, C. K.; MAESTRI, J. S. Hepatite crônica. *Scientia Rural*, v. 19, p.1-9. 2019.
25 Practice Guidelines for blood component therapy: a report by the American Society of
26 Anesthesiologists Task Force on Blood Component Therapy. **Anesthesiology**. v. 84, n.
27 3, p. 732-47, 1996.
28
- 29 PRATER, M.R. Acquired coagulopathy I: avitaminosis K. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL,
30 J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5.ed. Baltimore: **Lippincott**
31 **Williams & Wilkins**, 2000a. cap.81, p.556-559.
32
- 33 REZENDE, S.M. Distúrbios da hemostasia: distúrbios hemorrágicos. **Revista de**
34 **Medicina Minas Gerais**. V.20, n. 4, p. 534-553, 2010.
35
- 36 RIZZATTI, E.G.; FRANCO, R. F. Investigação diagnóstica dos distúrbios
37 hemorrágicos. **Medicina**, Ribeirão Preto. v.34, p.238-247, 2001.
38
- 39 SPECTOR, I. CORN, M. Laboratory tests of hemostasis. The relation to hemorrhage in
40 liver disease. **Arch Intern Med**. v. 119, n. 6, p. 577-582, 1967;
41
- 42 STOCKHAM, S.L.; SCOTT, M.A. Fundamentals of veterinary clinical pathology. Iowa:
43 **Iowa State Press**, 2002. chap. 5, p.155-255.
44
- 45 STOTTS, M.J.; DAVIS, J.P.E.; SHAH, N.L. Coagulation testing and management 328
46 in liver disease patients. **Curr Opin Gastroenterol**. v. 36, n. 3, p. 169-176, 2020.
47
- 48 TENNANT, B.C. Hepatic Function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L.
49 **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic 331 Press,
50 1997. cap.13, p.327-352.
51

- 1 TER MEULEN, J. et al. Activation of the cytokine network and unfavorable outcome in
- 2 patients with yellow fever. J Infect Dis. n. 190, n. 10, p. 1821-7, 2004.