

Adriane Jorge Mendonça

Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doença hepática

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

Orientadora: Prof^ª. Ass. Dr^ª. Regina Kiomi Takahira

Botucatu – SP

2004

Adriane Jorge Mendonça

**Avaliação do perfil hemostático, hematológico e
bioquímico de cães com doença hepática**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Clínica Veterinária.

Orientadora: Prof^a. Ass. Dr^a. Regina Kiomi Takahira

Botucatu – SP

2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Mendonça, Adriane Jorge.

Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de cães com
doença hepática / Adriane Jorge Mendonça. – 2004.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2004.

Orientadora: Regina Kiomi Takahira

Assunto CAPES: 50501038

1. Testes funcionais hepáticos 2. Cão - Doenças

CDD 616.362

CDD 636.7

Palavras-chave: Bioquímica; Cão; Distúrbios da coagulação; Doença hepática;
Hematologia

“Foram minhas pesquisas que me levaram a **Deus.**”

Antoine Henri Becquerel

Nobel de Física – 1903

“Quanto mais acredito na ciência, mais acredito em **Deus.**”

“O Universo é inexplicável sem **Deus.**”

Albert Einstein

Nobel de Física – 1921

“São insensatos por natureza todos os que desconhecaram **Deus**, e, através dos bens visíveis, não souberam conhecer Aquele que é, nem reconhecer o Artista, considerando suas obras. Se chegaram a tão vasta ciência, a ponto de investigarem o mundo, como é que não encontraram mais facilmente o seu Senhor?”

(Sab 13, 1.9)

Dedico este trabalho

Aos meus Pais

José Jorge (*in memoriam*) e Abigail. Pelo acolhimento ao dom da vida, pelo amor, pelo exemplo.

Ao meu Marido

André Luiz. Meu amado, meu ombro amigo, mistura perfeita de doçura e fortaleza. É maravilhoso poder contar com você em todos os momentos da minha vida!

Aos meus Filhos

Giuliana, Mariana e Pedro. Alegria da minha vida e três grandes motivos para seguir em frente, com amor e confiança!

“Preste atenção nos sinais - não deixe que as loucuras do dia-a-dia o deixem cego para a melhor coisa da vida: o AMOR!”

(Carlos Drummond de Andrade)

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Regina Kiomi Takahira**, pelos ensinamentos, pelo exemplo de dedicação, competência e humildade no trabalho e pela compreensão e apoio nos momentos mais delicados.

À minha querida amiga **Luciana de Almeida Machado**, por tudo, especialmente pela disposição, boa vontade e pelo sorriso meigo a mim dispensado durante todo o projeto de mestrado.

Ao meu sogro e minha sogra, **Luiz e Norma**, pelo apoio, pelas orações e pelo amor de Pai e Mãe que muito me ajudaram neste período.

Ao Departamento de Clínica Médica Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, especialmente à amiga **Prof^a. Darci Lara Perecin Nociti**, que aprovou e viabilizou o meu afastamento para capacitação.

Aos **Profs. Dr. Raimundo Souza Lopes, Dr^a. Denise S. Schwartz, Dr^a. Michiko Sakate e Dr^a. Aguemí Kohayagawa**, pelos ensinamentos e auxílio no projeto e interpretação dos resultados, bem como pelo exemplo de vida profissional e pessoal que me acompanharão sempre.

Aos funcionários do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, **Ilson e Sueli**, pelo carinho e ajuda na triagem dos casos clínicos; à **Sônia** do Laboratório de Parasitologia, e à **Marlene** do Departamento de Clínica Veterinária, pela acolhida, alegria e carinho de mãe que recebi.

Aos amigos residentes e pós-graduandos, **Veridiana, Karla, Cláudio, Andressa, Telma, Karina, Mere, Grazi, Eunice, Fred, Joandes, Raquel, Camilo, Luciana Takada, Luis Fernando, Osimar, Susana, Ednilse e Sandra** pelo convívio agradável, pelas dicas e apoio recebido ao longo do mestrado.

Aos professores, residentes e funcionários dos setores de Clínica Médica Veterinária de Pequenos Animais e de Moléstias Infecciosas, especialmente ao **Prof. Dr. Márcio Garcia Ribeiro**, aos residentes **Rafael, Vanessa e Hugo**, e ao funcionário **Rodrigo**, pela ajuda na viabilização do projeto.

À **Adriana e à Sandra**, por terem sido “mãe” para os meus filhos, e por manterem a harmonia do lar, enquanto me ausentava.

De todo o coração, MUITO OBRIGADA !

Que DEUS os abençoe sempre !

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE TABELAS

Resumo

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Hepatopatia e Hemostasia	15
2.2 Hepatopatia e Hematologia	20
2.3 Hepatopatia e Bioquímica clínica	22
3. MATERIAL E MÉTODO	28
3.1 Animais	28
3.2 Colheita e conservação das amostras	31
3.3 Exames laboratoriais	32
3.1.1 Hemograma	32
3.1.2 Tempo de coagulação	32
3.1.3 TTPA e TP	32
3.1.4 ALT e FA	33
3.1.5 Proteínas totais, albumina e globulina	33
3.1.6 Proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio	33
3.4 Análise estatística	33

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Perfil Hemostático	35
4.2 Perfil Hematológico	40
4.3 Perfil Bioquímico	45
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
6. CONCLUSÕES	51
7. REFERÊNCIAS	52
Abstract	61

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	alanina amino transferase
TTPA	tempo de tromboplastina parcial ativada
TP	tempo de protrombina
FA	fosfatase alcalina
PPT	proteínas plasmáticas totais
PT	proteínas totais
ATIII	antitrombina III
TCA	tempo de coagulação ativado
TT	tempo de trombina
PDF	produtos de degradação da fibrina
ADP	adenosina difosfato
CID	coagulação intravascular disseminada
Ht	hematócrito
HCA	hepatite crônica ativa
AST	aspartato amino transferase
SD	sorbitol desidrogenase
LD ₅	lactato desidrogenase isoenzima 5
GLDH	glutamato desidrogenase
FA	fosfatase alcalina
GGT	gama glutamil transferase
IgM	imunoglobulina M
IgG	imunoglobulina G
IgA	imunoglobulina A
VCM	volume corpuscular médio
CHCM	concentração de hemoglobina corpuscular média

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de referência da atividade sérica da ALT em cães adultos saudáveis.....24

Tabela 2 Valores da contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) de referência para cães normais.....29

Tabela 3: Valores hematológicos de referência para cães normais.....30

Tabela 4: Valores bioquímicos de referência para cães adultos normais.....31

Tabela 5: Médias e desvios padrão da contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) nos grupos controle e de cães com doença hepática35

Tabela 6: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) do fibrinogênio e das proteínas plasmáticas totais nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.....39

Tabela 7: : Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da contagem de eritrócitos, da hemoglobina, do hematócrito, do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.....40

Tabela 8: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da contagem de leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e monócitos nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.....43

Tabela 9: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), das dosagens séricas das proteínas totais (PT), da albumina e da globulina nos grupos controle e de cães com doença hepática.....45

Mendonça, A.J. Avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doença hepática. Botucatu, 2004. 62p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

A Clínica Médica Veterinária de pequenos animais tem avançado muito no diagnóstico da doença hepática. Sabemos que diversos testes laboratoriais usados rotineiramente na clínica são sensíveis indicadores de doença hepática em cães, no entanto, outros exames igualmente valiosos raramente são solicitados, como os testes de avaliação da hemostasia. A proposta deste estudo foi avaliar os perfis hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doenças hepáticas. Foram utilizados 44 animais divididos em dois grupos. Vinte cães com evidência histórica e/ou clínica de doença hepática, provenientes do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp/ Campus de Botucatu, foram selecionados com base no aumento da atividade sérica da enzima alanina amino transferase (ALT) > 50 UI/L. O grupo controle foi constituído por 24 cães hígidos, adultos, provenientes de proprietários particulares. Todos os animais foram submetidos aos mesmos exames laboratoriais: hemograma, contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), tempo de protrombina (TP), atividade enzimática das enzimas ALT e fosfatase alcalina (FA), dosagens das proteínas plasmáticas totais (PPT), proteínas totais séricas (PT), albumina e globulina séricas e fibrinogênio. Os resultados obtidos foram comparados pelo teste t de Student e pelo teste não paramétrico de Mann Withney. Concluiu-se que nas doenças hepáticas de cães há alteração do perfil hemostático, hematológico e bioquímico refletido por trombocitopenia, aumento dos tempos de coagulação, de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada, anemia hipocrômica, neutrofilia sem desvio à

esquerda, linfopenia, hipoalbuminemia e aumento da atividade sérica das enzimas FA e ALT.

PALAVRAS-CHAVES: doença hepática, cão, hematologia, bioquímica, alterações da coagulação, hemostasia.

Introdução e Objetivos

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A importância do fígado nos processos vitais pode ser resumida no simples fato de que uma hepatectomia total em mamíferos ocasiona a morte em poucas horas, especialmente devido à queda brusca da glicemia e ao aparecimento de substâncias tóxicas no sangue que deveriam ser metabolizadas pelos hepatócitos (Kolb, 1984).

O fígado age em diversos processos orgânicos como na regulação do metabolismo de hormônios, lipídios, carboidratos, aminoácidos e proteínas; síntese e degradação de proteínas (fatores da coagulação sanguínea, albumina, entre outras); na desintoxicação e excreção de subprodutos e outras substâncias tóxicas; na digestão pela secreção da bile, armazenamento de vitaminas e microelementos (ferro, cobre, manganês e zinco), além de reservatório de sangue (Kolb, 1985; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004).

Desta forma, as manifestações clínicas de doença hepática estão diretamente relacionadas às funções metabólicas, excretórias, sintéticas e digestivas que exerce e as alterações clinicopatológicas podem refletir tanto doença primária do fígado quanto secundária (Dial, 1995; Hughes & King, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004).

Para o diagnóstico da doença hepática, muitos aspectos devem ser considerados, como a história, o exame físico, os exames laboratoriais, e especialmente as manifestações clínicas que normalmente ocorrem após um comprometimento de 70% ou mais da capacidade funcional do fígado (Dial, 1995; Huges & King, 1995; Tennant, 1997).

Em muitos casos, o diagnóstico definitivo da doença hepática, tanto primária como secundária, requer outros exames como a citologia aspirativa hepática ou a biópsia, ou ainda a ultra-sonografia que nem sempre são viáveis devido ao custo, falta de pessoal capacitado para realizá-lo e à contra-indicação dos procedimentos invasivos nos casos de coagulopatias decorrentes da própria

insuficiência hepática (Gholson *et al.*, 1990; Dial, 1995; Kerwin, 1995; Burkhard & Meyer, 1996; Amitrano *et al.*, 2002; Tostes & Bandarra, 2002; Meyer, 2003).

A diátese hemorrágica associada a doenças hepáticas é um achado de caráter relevante na avaliação da severidade da doença (Tabasco-Minguillan *et al.*, 1997; del Olmo *et al.*, 2000; Amitrano *et al.*, 2002). Muitos estudos afirmam a importância da avaliação da hemostasia na doença hepática tanto em humanos (Bernstein, 2001; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002) como em animais, independentemente de haver ou não diátese hemorrágica (Badylak & Vanvleet, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Badylak, 1988; Meyer *et al.*, 1995; Dodds, 1997; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000; Tennant, 1997; Baker, 2004; Lassen, 2004).

No entanto, não é comum a avaliação destes parâmetros na doença hepática dos cães, ao contrário da Clínica Médica Humana que os consideram, na maioria das vezes, prioritários para o diagnóstico, o prognóstico e para as avaliações antes de procedimentos invasivos, como biopsia e cirurgias, bem como para estabelecer a necessidade ou não de transplante hepático (Hughes & King, 1995; Tabasco-Minguillan *et al.*, 1997; Amitrano *et al.*, 2002).

O hemograma normalmente acompanha a avaliação geral do animal, sendo variável com a origem da doença e o grau de severidade da mesma, sendo muito importante para monitorar o tratamento e estabelecer o prognóstico (Feldman, 1981; Silveira, 1988; Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Matos & Matos, 1995; Hughes & King, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Schultze, 2000).

A bioquímica sérica oferece informações essenciais sobre o envolvimento hepático nas diversas doenças (Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004), contudo, um aumento na atividade sérica das enzimas hepáticas maior que o dobro ou o triplo da variação normal em cães é considerado, tradicionalmente, indicativo de doença hepática (Dial, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004).

Considerando estes aspectos, este trabalho propõe um estudo acerca dos resultados laboratoriais dos perfis hemostático, hematológico e bioquímico de cães com doenças hepáticas de ocorrência natural atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/Unesp de Botucatu no período de março a junho de 2003, com o propósito de estabelecer um padrão de equivalência de resultados, a fim

de facilitar a interpretação, o diagnóstico, bem como dar suporte a um prognóstico mais seguro nas hepatopatias dos cães.

Revisão de Literatura

2. REVISÃO de LITERATURA

2.1. Hepatopatia e Hemostasia

Considerando que o fígado é essencial no processo de coagulação, a doença hepática está associada a anormalidades no sistema de coagulação (Badylak & Van Vleet, 1981; Green, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Badylak, 1988; Gholson *et al.*, 1990; Center *et al.*, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Dodds, 1997; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002; Kerr, 2003; Baker, 2004; Lassen, 2004).

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).

Dos fatores de coagulação, somente os fatores VIII:C e V não são proteases, e ambos aumentam a atividade dos outros fatores (Baker, 2004). Além disto, o fígado também é responsável pela remoção de muitos produtos ativados da coagulação e pela síntese de inibidores da coagulação, entre eles, a antitrombina III (ATIII), α_2 -macroglobulina, α_1 -antitripsina e α_1 -glicoproteína ácida, bem como pela síntese de componentes da fibrinólise como o plasminogênio e α_2 -antiplasmina igualmente importantes na manutenção do equilíbrio hemostático orgânico (Prater, 2000; Joist & George, 2001).

Também nas doenças orgânicas que comprometem a secreção da bile no trato intestinal, com colestase parcial ou total, a absorção da vitamina K, lipossolúvel e imprescindível para a produção hepática dos fatores de coagulação II, VII, IX e X, fica diminuída ou bloqueada, podendo resultar em alterações nos testes de avaliação de hemostasia (Meyer *et al.*, 1995; Amitrano *et al.*, 2002; Baker, 2004).

De um modo geral, a doença hepática severa leva a um desequilíbrio hemostático (Prater, 2000; Joist & George, 2001; Baker, 2004), atingindo tanto a hemostasia primária, ou seja, a formação do plug plaquetário por defeitos

qualitativos e quantitativos de plaquetas, quanto a hemostasia secundária (reduzida formação de fibrina), predispondo a sangramento anormal em humanos (Joist & George, 2001), e menos comumente em cães (Badylak & Van Vleet, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Hughes & King, 1995; Dodds, 1997; Prater, 2000).

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 (Tabasco-Minguilan *et al.*, 1997; Joist & George, 2001).

Em animais, observam-se sinais clínicos de diátese hemorrágica em casos de necrose hepatocelular massiva, cirrose, fase terminal de doença hepática crônica, outras doenças concorrentes, como a erliquiose, cirurgia ou trauma com alterações nos níveis de eritropoietina, citocinas e trombopoietina (Prater, 2000). 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, 85 e até 93%) (Badylak & Van Vleet, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Prater, 2000). Isto se deve a diversas razões, entre as quais uma alta produção de fatores pelos hepatócitos (Badylak & Van Vleet, 1981; Prater, 2000), eficácia do fígado na retirada de anticoagulantes da circulação, ou doenças que ocasionem um aumento de fatores como ocorre com o fator de Von Willebrand na hepatite infecciosa canina (Prater, 2000; Lassen, 2004).

Para a avaliação laboratorial da hemostasia os testes indicados são o tempo de coagulação, tempo coagulação ativado (TCA), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) (avalia via intrínseca e comum), o tempo de protrombina (TP) (avalia via extrínseca - fator VII e via comum), o tempo de trombina (TT), a contagem de plaquetas, a concentração de fibrinogênio plasmático, a dosagem dos produtos de degradação da fibrina (PDFs) e, se possível, o tempo de sangria (avalia plaquetas e vasos) (Meyer *et al.*, 1995; Prater, 2000; Kerr, 2003; Baker, 2004). A partir desta avaliação, outros exames podem ser solicitados, como as dosagens plasmáticas de fatores de coagulação, especialmente os fatores VII, V, VIII, II, X e IX, buscando informações sobre a síntese dos mesmos, grau de

severidade da lesão hepatocelular com base na meia vida de cada fator, bem como estabelecer um prognóstico confiável (Badylak *et al.*, 1983; Parry, 1995; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002; Baker, 2004).

Dentre os testes de avaliação da hemostasia, o TP e o TTPA são considerados sensíveis indicadores de doença hepática em cães (Badylak & VanVleet, 1981; Green, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Parry, 1995), gatos (Hughes & King, 1995; Lisciandro *et al.*, 1998) e humanos (Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002). Alguns estudos apontam o TP como um melhor marcador de prognóstico do que os níveis séricos de bilirrubina, transaminases, ou albumina em humanos com doença hepática aguda (Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002).

De uma forma geral, na doença hepática aguda em humanos e nos animais domésticos, o prolongamento do TP precede ao prolongamento do TTPA, pelo fato de que o fator VII, vitamina K dependente, tem uma meia vida mais curta, de 4 a 6 horas em cães, gatos e humanos, e compõe a via extrínseca da coagulação (Badylak *et al.*, 1983; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002). À medida que a lesão hepatocelular progride, os fatores V, II, X, XI e IX começam a diminuir progressivamente, alterando ambos TP e TTPA (Green, 1981; Dodds, 1997; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000; Amitrano *et al.*, 2002), permanecendo apenas o fator VIII elevado tendendo a diminuir à medida que evolui para um quadro de coagulação intravascular disseminada (CID), associado a hipofibrinogenemia, aumento de PDFs, hipoalbuminemia e trombocitopenia (Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002).

Na doença hepática crônica dos cães e gatos há uma tendência de prolongamento do TTPA precedendo ao TP (Green, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000), enquanto alguns autores não deram explicações para o fato, outros atribuíram a uma deficiência de fator XII em gatos, e outros também justificaram o aumento do TTPA devido a uma inadequada proporção de sangue e anticoagulante promovendo uma hemoconcentração em humanos e cães (Lisciandro *et al.*, 1998).

Embora as anormalidades hemostáticas sejam semelhantes em pacientes com infecção hepática aguda e severa ou hepatite tóxica, doença hepatocelular crônica, e obstrução biliar aguda ou crônica, e também mecanismos similares possam estar envolvidos, características clínicas distintas podem ser discutidas nos diferentes tipos de doença hepática (Joist & George, 2001).

Desta forma, nos casos de hepatite aguda de origem infecciosa, tóxica ou induzida por drogas, a anormalidade laboratorial mais comum pode ser uma trombocitopenia leve (100.000 a 150.000 plaquetas/ μ L), devida principalmente à hemorragia, trombose ou coagulação intravascular disseminada (CID) em cães e gatos (Hughes & King, 1995), além de trombocitopenia (Willis *et al.*, 1989; Dodds, 1997). A trombocitopenia em cães também pode estar associada a outros agentes relacionados ou não à doença hepática, como ocorre na hepatite infecciosa canina onde há destruição imunomediada de plaquetas ou lesão vascular endotelial, podendo levar a um quadro de CID; ou como na leptospirose canina causando uma vasculite com lesão endotelial importante e CID, além da doença hepática em si, agravando ainda mais as alterações de hemostasia (Russel & Grindem, 2000; Langston & Heuter, 2003). A trombocitopenia pode ser atribuída a uma alteração da sensibilidade das plaquetas ao ADP, especialmente em casos de colestase, dificultando a agregação plaquetária, ou também por defeitos de adesão ocasionados por anormalidades do fator de von Willebrand ou alterações vasculares (Willis *et al.*, 1989).

Também a baixa contagem de plaquetas deve ser considerada antes de colher amostra para citologia de fígado de cães e gatos com hepatomegalia, pois valor inferior a 20.000/ μ L é contra-indicação para este procedimento, e valores entre 20.000-50.000 plaquetas/ μ L têm uma contra-indicação relativa (Meyer, 2003).

O aumento de PDF com marcada hipofibrinogenemia e trombocitopenia foi observado em alguns pacientes humanos com hepatite fulminante (Joist & George, 2001). 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 (Amitrano *et al.*, 2002).

Na doença hepatocelular crônica, pode ser observada trombocitopenia leve a moderada em 1/3 ou mais dos pacientes humanos, pois no paciente cirrótico, 60 a 90% do volume total de plaquetas pode ser seqüestrado no baço nestas condições (Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002). Anormalidades na coagulação com alterações semelhantes às observadas na doença hepática aguda também ocorrem, devido à perda progressiva das células do parênquima hepático na doença crônica (Joist & George, 2001). Apesar de haver decréscimo de todos os fatores de coagulação vitamina K-dependente na cirrose hepática avançada, causando desequilíbrio hemostático grave, o baixo nível de fator V é considerado melhor marcador de lesão hepática do que os fatores vitamina K-dependente (Bernstein, 2000; Joist & George, 2001). A presença de um baixo nível de fator VII em pacientes com doença hepática crônica avançada tem recentemente aumentado o interesse no estudo desta molécula como uma nova opção de tratamento da insuficiência hepática em humanos e em cães (Bernstein, 2000; Romero Castro *et al.*, 2001; Amitrano *et al.*, 2002; Kristensen *et al.*, 2003).

O fibrinogênio encontra-se geralmente normal ou aumentado em pacientes com doença estabilizada, mas decresce na cirrose avançada, como resultado de síntese inadequada, perdas para espaços extravasculares, CID, podendo estar até ausente, aumento do catabolismo de fibrinogênio, hemorragia massiva, ou uma combinação destes fatores (Green, 1981; Parry, 1995; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002). Hardaway e colaboradores (2001) afirmam que nos casos de CID em humanos, os parâmetros de coagulação geralmente estão normais, e que o fibrinogênio encontra-se elevado devido à alta produção pelo fígado em resposta ao estresse.

A hiperfibrinólise é vista em pacientes com doença hepática crônica avançada. Está presente em 31% de pacientes humanos com cirrose hepática compensada, e em 93% de pacientes com ascite, e pode ser utilizado como indicador de maior severidade do quadro (Amitrano *et al.*, 2002). Um estado hiperfibrinolítico tem sido atribuído principalmente por aumento da concentração de ativadores do plasminogênio (especialmente tPA), devido a uma eliminação prejudicada pelo fígado e perda de aumento apropriado de inibidores de

ativadores de fibrinogênio (principalmente PAI-1) (Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002).

2.2. Hepatopatia e Hematologia:

Dentre as alterações hematológicas que ocorrem nas doenças hepáticas podemos citar a diminuição do número de hemácias, ou seja, anemia, normalmente regenerativa quando relacionada a perdas devido a hemorragias há mais de três dias (Meyer *et al.*, 1995). Esta anemia pode ser do tipo hemolítica ou por perda de sangue moderada (Hematócrito-Ht= 20 a 29%) a acentuada (Ht= 13-19%), acompanhada de hipoproteinemia (Center *et al.*, 1995; Dial, 1995; Tvedten & Weiss, 2000; Kerr, 2003).

Em casos de doença hepática inflamatória, podemos encontrar uma anemia normocítica normocrômica leve (Ht= 30-37%), atribuída a uma supressão leve da medula ou produção defeituosa devida à inflamação a longo termo (Feldman, 1981; Matos & Matos, 1985; Dial, 1995). Nas doenças crônicas do fígado pode ocorrer anemia por depressão seletiva da eritrogênese (Matos & Matos, 1985), sendo do tipo arregenerativa, causando redução da vida média dos eritrócitos, imperfeito retorno do ferro do sistema fagocitário mononuclear para a medula óssea, com conseqüente resposta inadequada da mesma (Silveira, 1988; Dial, 1995; Baker, 2003), ou por hemólise hiperesplênica resultante de esplenomegalia congestiva na cirrose hepática (Feldman, 1981).

Também em infecções bacterianas que causam distúrbio hepático em cães, como na leptospirose, a anemia está presente, e geralmente é do tipo hemolítica aguda, especialmente nos casos de infecção por *Leptospira interrogans* sorovares *icterohaemorrhagiae* e *pomona* (Stockham, 2000; Tvedten & Weiss, 2000; Kerr, 2003; Langston & Heuter, 2003; Thrall, 2004). Thrall (2004) atribui a anemia hemolítica causada pela leptospirose em cães à ação de toxinas bacterianas (hemolisinas), e principalmente devido a uma resposta hemolítica imuno-mediada, provavelmente mediada por IgM. Alguns autores afirmam que há estreita associação da leptospirose canina com hepatite crônica ativa (HCA), por

isto sugerem a pesquisa da bactéria no diagnóstico diferencial de HCA (Dill-Macky, 1995; Langston & Heuter, 2003).

Com relação ao tamanho das hemácias, a anemia pode ser normocítica (hemácias de diâmetro normal para a espécie), macrocítica (maiores) ou microcítica (menores) (Matos & Matos, 1985; Silveira, 1988; Meyer *et al.*, 1995; Tvedten & Weiss, 2000; Baker, 2003). A macrocitose pode estar presente em cães nos casos de anemia regenerativa, uso de drogas anticonvulsivantes, hipernatremia e estoque prolongado de sangue entre outras causas (Matos & Matos, 1985; Tvedten & Weiss, 2000). Na anemia hemolítica normalmente a resposta é mais intensa do que na anemia por perda de sangue, porque nesta, perde-se juntamente o ferro necessário à síntese de hemoglobina e, com perdas intensas ou crônicas há uma tendência a microcitose com hipocromia por deficiência de ferro (Tvedten & Weiss, 2000; Rebar, 2003).

Segundo Rebar (2003) nos casos de CID a anemia é do tipo hemolítica devido à ruptura das hemácias ao atravessarem capilares anormalmente tortuosos, denominada hemólise mecânica microangiopática. Na hemólise que ocorre em quadros de CID, doença hepática crônica e desvio porto sistêmico, o achado comum em esfregaço sangüíneo corado é a presença de fragmentos de eritrócitos (esquisócitos) ou acantócitos (Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tvedten & Weiss, 2000; Rebar, 2003).

Além das observações em esfregaço sangüíneo corado que indicam a resposta da medula óssea frente à anemia, como anisocitose e policromasia, presença de corpúsculos de Howell Jolly e metarrubricitos, outros exames complementam o diagnóstico de uma resposta regenerativa ou não, como a contagem de reticulócitos e a avaliação da medula óssea (Feldman, 1981; Silveira, 1988; Meyer *et al.*, 1995; Tvedten & Weiss, 2000; Rebar, 2003). A avaliação diferencial das anemias hemolíticas é indicada, com a observação de esferócitos em lâmina corada na anemia hemolítica imunomediada ou de corpúsculos de Heinz na ingestão de substâncias ou drogas oxidantes, sendo indicado o teste de Coombs (teste da antiglobulina direta) ou teste com solução salina isotônica para confirmar hemólise imunomediada (Kerr, 2003; Rebar, 2003; Thrall, 2004).

As respostas de leucograma são variáveis, de acordo com a doença hepática em questão e o grau de severidade da mesma. Desta forma, na lesão hepática aguda, apresentará leucocitose, com contagem total de leucócitos acima de 20.000 células/ μ L de sangue, se um processo inflamatório grave estiver ocorrendo (Dial, 1995; Hughes & King, 1995), com neutrofilia e desvio à esquerda, podendo ser acompanhada de eosinopenia, linfopenia e monocitose por liberação de corticosteróides endógenos (Meyer *et al.*, 1995; Schultze, 2000, Rebar, 2003).

Respostas normais ou até diminuídas podem ser verificadas na presença de sepsis, bacteremia ou seqüestro de neutrófilos (Dial, 1995; Hughes & King, 1995; Langston & Heuter, 2003). Na leptospirose canina, a leucocitose é um achado comum, com ou sem desvio à esquerda, com uma contagem de leucócitos entre 16.500 a 45.000/ μ L (Langston & Heuter, 2003). Em cães com neoplasia hepática primária o achado mais freqüente é anemia normocítica normocrômica e leucocitose neutrofílica (Hammer & Sikkema, 1995).

De um modo geral, na resposta inflamatória crônica, ocorre leucocitose com neutrofilia, mas sem desvio à esquerda, ou desvio leve (Meyer *et al.*, 1995; Schultze, 2000), apesar de alguns autores considerarem as mudanças hematológicas não específicas na hepatite crônica de cães (Dill-Macky, 1995).

Por fim, na hepatite viral canina, normalmente há uma linfopenia acentuada, podendo ser acompanhada de leucopenia e neutropenia (Silveira, 1988; Meyer *et al.*, 1995, Schultze, 2000).

2.3. Hepatopatia e Bioquímica clínica:

Na clínica, os pacientes com uma história e sinais sugestivos de doença hepática são submetidos a testes laboratoriais bioquímicos para verificar a severidade da doença, estabelecer o prognóstico, definir causas tratáveis das complicações de insuficiência hepática, e para monitorar a progressão da doença hepática (Coles, 1984; Center *et al.*, 1995; Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004).

Os parâmetros usados para avaliar o fígado podem ser divididos em testes de enzimas séricas, que detectam lesão de hepatócitos ou colestase, e testes funcionais (Meyer *et al.*, 1995; Lassen, 2004). Os testes de enzimas séricas compreendem as enzimas de vazamento alanina aminotransferase (ALT), aspartato amino transferase (AST), sorbitol desidrogenase (SD), lactato desidrogenase isoenzima 5 (LD₅), e a glutamato desidrogenase (GLDH), e as enzimas que aumentam por acelerada produção estimulada por uma diminuição do fluxo biliar, como a fosfatase alcalina (FA) e a gama-glutamiltransferase (GGT) (Sutherland, 1989; Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004). Os testes funcionais incluem as substâncias produzidas no fígado (proteínas totais, albumina, globulina, uréia, fatores de coagulação e glicose), bem como as substâncias que dependem de processamento metabólico ou excreção (bilirrubinas, ácidos biliares, amônia, colesterol e os pigmentos) (Coles, 1984; Sutherland, 1989; Center *et al.*, Hughes & King, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004).

Alguns fatores devem ser considerados ao avaliar as alterações da atividade sérica das enzimas, tais como a localização celular, a atividade e concentração da enzima nos diferentes tecidos, a quantidade de tecido lesado, o grau de severidade e a presença de processo regenerativo (Meyer *et al.*, 1995; Kramer & Hoffmann, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004)

A atividade da ALT é elevada nos hepatócitos de cães, e por ser citoplasmática, aumenta em lesão hepática rapidamente (cerca de 12 horas após, com pico entre 1 e 2 dias), 4 a 5 vezes mais do que o aumento da AST (Tennant, 1997; Lassen, 2004); mesmo contendo AST citoplasmático (Dial, 1995). As transaminases também são utilizadas para diferenciar lesão hepática hepatocelular de formas colestáticas, no entanto, as duas formas podem coexistir na doença hepática grave (Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004). A atividade da ALT muscular em cães e gatos é menor que a do fígado, porém, como a massa total de músculo é muito maior do que a hepática, o aumento da ALT nestas espécies, também podem sugerir necrose ou lesão muscular esquelética (Dial, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Kramer & Hoffmann, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004), embora as duas circunstâncias

possam estar presentes juntamente, especialmente nos casos de encefalopatia hepática na qual o animal se debate, provocando lesões musculares (Meyer *et al.*, 1995; Lassen, 2004).

Muitos autores consideram que o aumento acentuado da atividade sérica da enzima ALT em cães e gatos é altamente sugestivo de intensa destruição hepática, com estudos afirmando haver estreita correlação entre atividade enzimática sérica e mudanças histopatológicas (Dial, 1995; Hughes & King, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004). Em estudos com cães, observou-se um aumento significativo de ALT nos casos de hepatite crônica, hepatite crônica ativa, neoplasias e degeneração, com elevação concomitante da atividade da FA e da concentração de bilirrubina (Dill-Macky, 1995; Mamprim, 1999) .

Hughes & King (1995) afirmam que a elevação leve ou moderada das enzimas de vazamento é um achado inespecífico em muitos cães e gatos com diversas desordens, incluindo o choque. Outros autores consideram como lesão hepática em cães, um aumento de atividade da ALT, ou FA, ou GGT duas vezes maior que o limite superior da espécie (Willis *et al.*, 1989; Tennant, 1997), ou ainda, valores de ALT superiores a 150-200 UI/L (Kerr, 2003). No entanto, grande é a amplitude nos valores de referência para a atividade sérica da enzima ALT em cães adultos saudáveis, conforme constatamos na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de referência da atividade sérica da ALT em cães adultos saudáveis:

ALT (UI/L)	REFERÊNCIAS
2,5 – 25	Van Vleet & Alberts (1968)
10 – 50	Kaneko (1973)
5 – 80	Johnson <i>et al.</i> (1982)
20 – 45	Bunch <i>et al.</i> (1985)
0 – 69	Abdelkader & Hauge (1986)
0 – 130	Lumsden & Jacobs (1989)
10 – 88	Meyer <i>et al.</i> (1995)
21 – 102	Kaneko <i>et al.</i> (1997)
< 100	Kerr (2003)

Altas concentrações de FA são encontradas no intestino, rins, ossos e fígado, e o aumento da atividade sérica pode ser observado no crescimento normal de animais, em animais adultos com aumento de atividade osteoblástica e em doenças hepatobiliares (Sutherland, 1989; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997). Tanto em doenças hepáticas agudas como nas crônicas pode haver aumento da atividade sérica da FA de origem hepática (Dill-Macky, 1995; Mamprim, 1999), mas elevações marcadas são indicativas de colestase (Meyer *et al.*, 1995; Kerr, 2003), especialmente em animais com colangite, cirrose biliar ou obstrução de ducto biliar extrahepático (Tennant, 1997). Um aumento da FA muito acima do aumento da ALT em cães indica colangite/colangiohepatite, principalmente se a concentração sérica da bilirrubina estiver também elevada (Hughes & King, 1995; Meyer, 2003).

O cão tem uma grande capacidade para produção de FA, com uma meia-vida em torno de três dias, e normalmente o aumento da FA sérica com fluxo biliar prejudicado ocorre antes do desenvolvimento de hiperbilirrubinemia (Sutherland, 1989; Meyer *et al.*, 1995; Lassen, 2004). O cão mostra-se igualmente sensível ao aumento de produção de FA secundária à indução farmacológica como drogas glicocorticóides e anticonvulsivantes (Hughes & King, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004), porém sem hiperbilirrubinemia concomitante nestes casos (Meyer *et al.*, 1995).

O aumento da atividade sérica da enzima GGT reflete o aumento de produção e liberação pelo tecido hepatobiliar como a FA, porém não está associada à atividade osteoblástica (Hughes & King, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Kramer & Hoffmann, 1997; Tennant, 1997). Tem sido sugerido que a GGT possa ter a mais alta especificidade na avaliação do tipo de doença hepatobiliar, colestase, em cães, embora sua atividade sérica não seja tão elevada como a da FA na obstrução de ducto biliar (Tennant, 1997).

Dial (1995) afirma que a FA em cães tem se mostrado pouco específica, porém altamente sensível para doença hepatobiliar, enquanto a GGT tem alta especificidade, mas pobre sensibilidade, e a avaliação das duas enzimas juntamente aumenta a especificidade e o valor prognóstico positivo da FA. Em cães, o uso de corticosteróides estimula o aumento de produção da GGT, porém

drogas anticonvulsivantes parecem não ter o mesmo efeito (Meyer *et al.*, 1995), embora haja controvérsia entre autores contemporâneos (Dial, 1995). Também o colostro e o leite têm alta atividade sérica da enzima GGT, o que reflete em aumento sérico da mesma nos animais em amamentação (Meyer *et al.*, 1995).

Dentre as substâncias produzidas pelo fígado, temos várias proteínas como fatores de coagulação, albumina e globulinas, sendo, a maioria delas encontrada no plasma e também no soro, com exceção daquelas consumidas durante a coagulação sangüínea (Sutherland, 1989; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004). Como já fora discutido na revisão sobre hepatopatia e hemostasia, a diminuição na produção dos fatores de coagulação nas doenças hepáticas, traz conseqüências sérias, e a predisposição a alterações hemorrágicas em animais com hepatopatias deve ser mantida em mente (Meyer *et al.*, 1995).

A mensuração das proteínas séricas totais reflete uma combinação entre a albumina, produzida exclusivamente pelo fígado, e as globulinas, produzidas pelos tecidos linfóides e hepatócitos (Meyer *et al.*, 1995; Kaneko, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004).

A capacidade hepática para manter a homeostase da albumina pode ser perdida quando há uma diminuição de 70 a 80% da massa hepática efetiva, cirrose hepática, quando a perda de proteínas excede à síntese hepática como nas nefropatias e enteropatias, ou quando a disponibilidade de aminoácidos precursores para síntese de proteínas está restringida pela síndrome de má-digestão/mal-absorção ou parasitismo (Sutherland, 1989; Meyer *et al.*, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004). Se a albumina plasmática estiver abaixo de 1,5 g/dl em cães e gatos, o edema oncótico e/ou ascite podem se desenvolver (Sutherland, 1989; Kerr, 2003).

A insuficiência hepática pode levar a uma diminuição da síntese pelos hepatócitos, com conseqüente hipoalbuminemia e hipoglobulinemia (menos intensa) (Meyer *et al.*, 1995; Kaneko, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004). Em hepatopatias severas e crônicas há uma tendência de aumento de IgM, IgG e IgA (Tennant, 1997), por estímulo à síntese resultante de contínua exposição do sistema imune a novos antígenos (Sutherland, 1989), causadas por

uma incapacidade de ação das células de Kupffer na remoção de proteínas estranhas (Lassen, 2004), ocasionando hiperglobulinemia com diminuição da albumina, com mais de 60% dos cães com doença hepática crônica e alteração da relação albumina/globulina (Kaneko, 1997; Lassen, 2004).

Também em outras doenças crônicas, quadros de debilidade e processos inflamatórios crônicos, a diminuição discreta ou moderada pode ocorrer devido ao aumento das globulinas, mas quando há uma concentração inferior a 1,6 g/dL, pode-se considerar que há uma hipoalbuminemia verdadeira e, a partir de então, deve-se fazer uma investigação do fígado, dos rins e intestinos (Kaneko, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004). Concorrentes perdas sangüíneas com comprometimento da hemostasia podem contribuir para a hipoalbuminemia na insuficiência hepática aguda (Dial, 1995).

Material e Método

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Animais

Foram constituídos dois grupos experimentais de cães assim dispostos:

Grupo de cães com doenças hepáticas - vinte cães de 2 a 8 anos de idade, independente de sexo e raça, com evidência histórica e/ou clínica de doença hepática, provenientes do atendimento clínico dos setores de Clínica Médica Veterinária de Pequenos Animais e de Moléstias Infecciosas do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp/ Campus de Botucatu, durante o período de março a junho de 2003. Estes cães foram selecionados com base no aumento da atividade sérica da enzima alanina aminotransferase (ALT) > 50 UI/L (Kaneko, 1973), e no diagnóstico clínico e/ou laboratorial de doença hepática feito pelo clínico responsável.

Grupo controle – vinte e quatro animais hígidos provenientes de proprietários particulares (com o conhecimento e consentimento dos mesmos), foram submetidos aos mesmos exames laboratoriais. Estes cães foram considerados livres de doenças baseado no conjunto de achados do exame físico, da anamnese, do hemograma e da avaliação da atividade sérica da enzima ALT, considerados dentro dos padrões de normalidade, segundo Meinkoth & Clinkenbeard (2000) e Kaneko (1973).

Os valores de referência para cães adultos considerados neste trabalho foram:

- contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) – Tabela 2;
- hemograma - Tabela 3;
- bioquímica sérica – atividade das enzimas ALT e FA; determinações das proteínas totais, albumina e globulina; determinação das proteínas plasmáticas totais e do fibrinogênio – Tabela 4.

Tabela 2 Valores da contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) de referência para cães normais.

Parâmetros	Valores	Referências
Contagem de Plaquetas x 10 ³ /μL	200 - 500	Baker, 2004
Tempo de Coagulação - minutos	3 - 13	Stockham & Scott, 2002
TP – segundos	5,8 – 7,6	Badylak & Van Vleet, 1981
TTPA – segundos	11 – 16,1	Badylak & Van Vleet, 1981

Tabela 3: Valores hematológicos de referência para cães normais.

PARÂMETROS	VALORES de REFERÊNCIA
Eritrócitos x 10 ⁶ / μ L	5,5 – 8,5
Hemoglobina g/dL	12-18
Hematócrito %	37 – 55
VCM fL	60 – 77
CHCM %	32 – 36
Leucócitos / μ L	6.000 – 17.000
Bastonetes / μ L	0 – 300
Neutrófilos segmentados / μ L	3.000 – 11.500
Linfócitos / μ L	1.000 – 4.800
Eosinófilos / μ L	100 – 1.250
Basófilos / μ L	Raros
Monócitos / μ L	150 – 1.350

Fonte: Meinkoth & Clinkenbeard, 2000.

Tabela 4: Valores bioquímicos de referência para cães adultos normais.

Parâmetros	Valores normais	Referências
ALT – UI/L	10 – 50	Kaneko, 1973
FA – UI/L	20 – 156	Kaneko <i>et al.</i> , 1997
Proteínas Totais – g/dL	5,4 – 7,1	Kaneko <i>et al.</i> , 1997
Albumina – g/dL	2,6 – 3,3	Kaneko <i>et al.</i> , 1997
Globulina – g/dL	2,7 – 4,4	Kaneko <i>et al.</i> , 1997
Proteínas plasmáticas totais – g/dL	5,4 – 7,1	Kaneko <i>et al.</i> , 1997
Fibrinogênio – mg/dL	200 – 400	Kaneko <i>et al.</i> , 1997

3.2. Colheita e Conservação das Amostras:

Foi colhido sangue da veia jugular em momento único em:

- tubos a vácuo¹ com anticoagulante etilenodiaminotetraacético (EDTA) a 10% (3 mL);
- tubos a vácuo siliconizados¹(10 mL), sem anticoagulante;
- tubos de ensaio² 10x75 (3 mL), sem anticoagulante;
- tubos de plástico de fundo cônico³ em banho de gelo, com 0,5 mL de anticoagulante citrato de sódio a 3,8% a ser adicionado a 4,5 mL de sangue.

As amostras de sangue colhidas em tubos a vácuo com EDTA para o hemograma, a contagem de plaquetas, a determinação das proteínas plasmáticas totais e do fibrinogênio foram processadas imediatamente após a colheita.

As amostras de soro colhidas para as provas bioquímicas foram mantidas

¹ Vacutainer®, Becton-Dickinson. Ind. Cirúrgicas Ltda, Brasil.

² Tubos de ensaio 10x75 - Tuboglas®

³ Tubos de plástico fundo cônico c/ tampa- 15ml – Alfa®

em tubos tipo eppendorfs⁴, conservados a -20°C.

As amostras de sangue para a avaliação do TP e do TTPA foram centrifugadas dentro de até 1 hora após a colheita e imediatamente acondicionadas em tubos tipo eppendorfs⁴ e conservadas a -80°C até o momento do processamento. Estas amostras foram processadas em menos de 1 hora, após o descongelamento natural, em ambiente climatizado com temperatura próxima a 25°C. As amostras de sangue colhidas em tubos de ensaio sem anticoagulante, para a avaliação do tempo de coagulação, foram processadas no momento da colheita.

3.3. Exames Laboratoriais:

3.3.1. Hemograma:

A hematimetria, a contagem de plaquetas e a leucometria total de células foi realizada em contador eletrônico de células⁵.

A contagem diferencial de leucócitos e a avaliação da morfologia dos eritrócitos, dos leucócitos e das plaquetas, foi realizada através de esfregaços sangüíneos, corados pelo método Romanowsky (Jain, 1993), com corante hematológico instantâneo.

3.3.2. Tempo de coagulação:

O tempo de coagulação foi realizado pelo método de Lee-White (Stockham & Scott, 2002).

3.3.3. TTPA e TP:

A determinação do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA)⁶ foi realizada pela técnica manual, com a utilização de ácido elágico como ativador e com extrato de cérebro de coelho com clorofórmio, tampão e estabilizadores.

⁴ Tubos eppendorffs graduados- Kima®

⁵ CELL – DYN 3500 R, Abbott Diagnostic, USA.

⁶ Kit APPT- EA + CaCl₂ c/ 10ml p/100 TT(TTPA) - TECO®

Para a determinação do tempo de protrombina (TP)⁷ foi utilizado o método manual, com o uso de tromboplastina liofilizada, contendo extrato de cérebro de coelho com tampão, estabilizadores e cloreto de cálcio.

3.3.4. Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA):

Para a determinação da atividade da alanina aminotransferase (ALT)⁸ foi utilizado o método UV otimizado. A fosfatase alcalina (FA)⁹ no soro foi determinada por meio do método otimizado para determinação cinética da mesma.

3.3.5. Proteína Total, albumina e globulina:

A dosagem das proteínas totais no soro foi determinada pelo método colorimétrico - Biureto¹⁰. A albumina sérica foi determinada por meio do método colorimétrico¹¹, e a dosagem de globulina foi obtida pelo resultado da subtração entre as proteínas totais e a albumina.

3.3.6. Proteínas plasmáticas totais e Fibrinogênio:

As dosagens das proteínas plasmáticas totais foram determinadas por refratometria e do fibrinogênio pelo método da precipitação pelo calor (Baker, 2004), usando um refratômetro¹² em sangue colhido com EDTA.

3.4. Análise estatística:

Para cada variável avaliada no estudo, os grupos de cães saudáveis e cães com doença hepática foram comparados pelo teste t de Student para amostras

⁷ Kit Thromboplastin c/ ISI 2,09 p/ 200 TT(TP) - TECO®

⁸ Kit para determinação sérica de ALT/120ml - CELM®

⁹ Kit para determinação sérica de FA/50ml - CELM®

¹⁰ Kit para determinação sérica de proteínas totais/250ml - Analisa®

¹¹ Kit para determinação sérica de albumina/250ml - Analisa®

¹² Refratômetro ATAGO-SPR-T2

independentes e pelo teste não paramétrico de Mann Withney quando não se verificou normalidade e/ou homogeneidade de variâncias (Zar, 1996). Os testes foram realizados ao nível de 5% de significância.

Desta forma, os testes de avaliação da hemostasia (contagem de plaquetas, tempo de coagulação, TP e TTPA) foram comparados pelo teste t de Student, e os demais testes (ALT, FA, Proteínas totais, albumina, globulina, proteínas plasmáticas totais, dosagem de fibrinogênio plasmático e hemograma) foram analisados pelo teste de Mann Withney.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Perfil Hemostático:

Os parâmetros utilizados para a avaliação da hemostasia foram analisados segundo os grupos de cães controle e de cães com doenças hepáticas, sendo que os resultados estão listados na Tabela 5.

Tabela 5: Médias e desvios padrão da contagem de plaquetas, tempo de coagulação, tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) nos grupos controle e de cães com doença hepática.

Parâmetros	Grupo controle	Grupo hepatopata
Contagem de Plaquetas x 100.000/ μ L	2,73 \pm 0,79 (a)	1,30 \pm 1,35 (b)
Tempo de Coagulação – minutos	11,17 \pm 2,69 (a)	17,30 \pm 8,44 (b)
TP – segundos	7,42 \pm 0,88 (a)	8,80 \pm 2,73 (b)
TTPA – segundos	12,21 \pm 1,53 (a)	17,10 \pm 5,83 (b)

Médias de grupos seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($p > 0,05$), pelo teste t de Student, para cada parâmetro.

Os valores para a contagem de plaquetas ($p < 0,001$), tempo de coagulação ($p = 0,002$), TP ($p = 0,024$) e TTPA ($p < 0,001$) apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

A contagem de plaquetas teve uma média de 273.000 plaquetas/ μ L, com um desvio padrão de 79.000 plaquetas/ μ L no grupo controle, estando próximo ao limite inferior da média estabelecida como referência (200.000 – 500.000

plaquetas/ μL – Baker, 2004), mas ainda dentro da normalidade. Entretanto, no grupo de animais com doença hepática, a média foi de 130.000 plaquetas/ μL , com um desvio padrão de 135.000 plaquetas/ μL , o que nos mostra uma trombocitopenia marcante neste grupo.

Dos vinte cães com doença hepática avaliados neste estudo, quinze (75%) apresentaram trombocitopenia, assim distribuídos:

2 cães (10%) – 150.000 – 199.999 plaquetas/ μL ;

4 cães (20%) – 100.000 – 149.999 plaquetas/ μL ;

2 cães (10%) – de 50.000 e 99.999 plaquetas/ μL ;

7 cães (35%) – valores inferiores a 49.999 plaquetas/ μL .

Segundo Russell & Grindem (2000), uma contagem inferior a 50.000 plaquetas/ μL é considerada muito grave e, por si só poderia ocasionar um quadro hemorrágico.

A ocorrência de uma diminuição na contagem de plaquetas é um achado comum na doença hepática dos cães (Badylak *et al.*, 1983; Huges & King, 1995; Prater, 2000) e gatos (Huges & King, 1995; Lisciandro *et al.*, 1998), bem como em humanos (Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002).

A trombocitopenia é atribuída a vários fatores como um consumo aumentado em casos de CID secundária à doença hepática (Willis *et al.*, 1989), diminuição na produção, destruição prematura devido a viroses ou a seqüestro de plaquetas devido a uma esplenomegalia congestiva secundária (pseudotrombocitopenia) (Prater, 2000; Joist & George, 2001; Rebar *et al.*, 2003). Para a avaliação das causas da trombocitopenia nos cães com doença hepática, seriam necessários outros exames complementares tais como a contagem de plaquetas reticuladas, o volume plaquetário médio, a amplitude de distribuição das plaquetas, avaliação de medula óssea, especialmente dos megacariócitos, e também uma avaliação de hemostasia terciária como dosagem dos PDFs para verificar um possível quadro de CID, o que não foi proposto neste estudo.

Em relação à avaliação do coagulograma todos os parâmetros utilizados apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 5).

O tempo de coagulação apresentou uma média de $11,17 \pm 2,69$ minutos no grupo controle e de $17,30 \pm 8,44$ minutos no grupo de animais com doença

hepática. Estes resultados mostram um tempo de coagulação prolongado no grupo de cães com doença hepática em relação aos valores de referência (3 – 13 minutos - Stockham & Scott, 2002), e, em relação ao grupo controle sendo esta diferença significativa ($p=0,002$).

O TP apresentou um tempo médio de $7,42 \pm 0,88$ segundos no grupo controle e de $8,80 \pm 2,73$ segundos no grupo de cães com doença hepática, com uma diferença significativa ($p=0,024$) entre os grupos. Em relação ao valor de referência utilizado para este estudo (5,8 – 7,6 segundos - Badylak & Van Vleet, 1981), o grupo de animais com doença hepática apresentou um valor médio de TP prolongado.

O TTPA apresentou um tempo médio de $12,21 \pm 1,53$ segundos no grupo controle e de $17,10 \pm 5,83$ segundos no grupo de cães com doença hepática. A diferença entre os grupos foi significativa ($p<0,001$), e o valor médio do TTPA no grupo de cães doentes estava prolongado em relação ao valor de referência usado neste estudo (11 – 16,1 segundos – Badylak & Van Vleet, 1981). Segundo Meyer & Harvey (1998), um TTPA com um tempo maior do que 4 segundos em relação ao tempo controle é considerado prolongado, fato que ocorreu neste trabalho, com uma diferença média de 4,89 segundos entre os grupos.

Estes resultados são compatíveis com os achados em estudos anteriores com humanos, cães e gatos (Badylak & Van Vleet, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Dill-Macky, 1995; Parry, 1995; Dodds, 1997; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002; Baker, 2004) e confirmam que houve alterações laboratoriais importantes, tanto de hemostasia primária (plaquetas), quanto de hemostasia secundária (coagulograma) no grupo dos animais com doença hepática.

Além das alterações dos parâmetros avaliados no coagulograma dos cães com doença hepática deste estudo, foi observada uma alteração do TTPA precedendo à alteração do TP em quatro animais. A literatura cita igual situação em alguns estudos em cães com doença hepática crônica (Green, 1981; Badylak *et al.*, 1983; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000); no entanto, as causas para tal fato não são apresentadas, ou são questionáveis, como a deficiência de fator XII em gatos, ou hemoconcentração devido à inadequada proporção de sangue e

anticoagulante em humanos e cães (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. A deficiência do fator VII altera o TP, por isto o TP é considerado o melhor marcador de prognóstico das doenças hepáticas agudas em humanos e nos animais domésticos (Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al*, 2002). Como não foi proposta deste estudo a avaliação dos fatores XII e VII, não há como confirmar ou descartar estas deficiências e não houve a ocorrência de hemoconcentração neste estudo.

Outra observação foi quanto ao nível de significância na avaliação do coagulograma, tendo o TTPA um nível < 0,1% contra 0,2% para o tempo de coagulação e 2,4% para a avaliação do TP. Deste modo podemos afirmar que o TTPA apresentou um nível de significância mais consistente do que o tempo de coagulação, e este, mais que o TP neste estudo. Este fato vem corroborar a importância da avaliação de ambos, TP e TTPA, na doença hepática dos cães indicada por diversos autores (Badylak *et al*, 1983; Dodds, 1995; Parry, 1995; Prater, 2000), aliado à avaliação do tempo de coagulação que é pouco citada na literatura e facilmente aplicável à clínica.

As alterações do coagulograma na doença hepática são atribuídas, entre várias causas, à diminuição da síntese dos fatores de coagulação pelos hepatócitos, síntese anormal de fatores, consumo excessivo ou proteólise, prolongando o tempo de coagulação, o TP, o TTPA e o TT, algumas vezes aliado a hiperfibrinólise, trombocitopenia, trombocitopatia e aumento dos PDFs, caracterizando um quadro de CID, de acordo com a severidade da doença hepática (Badylak *et al*, 1983; Parry, 1995; Prater, 2000; Joist & George, 2001).

Quatro animais tiveram diagnóstico de hepatite crônica ativa por ultrasonografia, sendo que dois estavam associados à leptospirose, confirmada por sorologia, e nove cães tiveram diagnóstico de leptospirose, a qual, além de causar danos hepáticos como degeneração e hepatite crônica ativa como

seqüela, levando a uma diminuição na produção dos fatores de coagulação, também pode ocasionar uma vasculite grave com lesão endotelial, contribuindo para a manifestação de diátese hemorrágica e até culminando com um quadro de CID (Stockham, 2000; Tvedten & Weiss, 2000; Kerr, 2003; Langston & Heuter, 2003; Thrall, 2004). Este fato poderia justificar um TTPA prolongado antes do que o TP neste estudo, bem como a ocorrência da trombocitopenia.

A avaliação do fibrinogênio e das proteínas plasmáticas totais não apresentou diferença significativa entre os grupos (Tabela 6).

Tabela 6: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) do fibrinogênio e das proteínas plasmáticas totais nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.

Parâmetros	Grupo controle	Grupo hepatopata
Fibrinogênio – g/dL	200 (100; 200) (a)	200 (150; 450) (a)
PPT – g/dL	6,70 (6,40; 7,20) (a)	7,05 (5,15; 8,50) (a)

Grupos representados pelas medianas, seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($P > 0,05$), pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, para cada parâmetro.

Apesar de não observarmos hipofibrinogenemia neste estudo e de não termos avaliado o TT, nem PDF, os valores prolongados do TP e TTPA, e a trombocitopenia revelaram diferenças significativas entre os grupos que podem ter como causa uma produção diminuída dos fatores de coagulação pelos hepatócitos, ou o início de um quadro de CID.

Estes dados estão de acordo com alguns autores (Hughes & King, 1995; Dodds, 1997; Russel & Grindem, 2000; Langston & Heuter, 2003) em relação às alterações do coagulograma e trombocitopenia. Porém, ao avaliar o fibrinogênio, alguns autores (Green, 1981; Parry, 1995; Prater, 2000; Joist & George, 2001; Amitrano *et al.*, 2002) consideram que na doença hepática estabilizada o

fibrinogênio pode estar normal ou aumentado e na cirrose ou quadro de CID há uma diminuição ou até ausência do mesmo, ao passo que Hardaway e colaboradores (2001) afirmam que o fibrinogênio estará normalmente aumentado mesmo no quadro de CID, exceto em raros casos de CID fulminante.

4.2. Perfil Hematológico:

Os resultados da avaliação dos parâmetros referentes ao eritrograma segundo os grupos de cães sadios e cães com doença hepática são apresentados na Tabela 7, e os resultados referentes à avaliação do leucograma segundo os mesmos grupos estão listados na Tabela 8.

Tabela 7: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da contagem de eritrócitos, da hemoglobina, do hematócrito, do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.

Parâmetros	Grupo controle	Grupo hepatopata
Contagem de eritrócitos x $10^6/\mu\text{L}$	6,38 (6,12; 6,75) (a)	4,11 (3,09; 5,13) (b)
Hemoglobina - g/dL	15,30 (14,60; 16,95) (a)	9,38 (6,82; 12,10) (b)
Hematócrito - %	46,50 (43,50; 50,50) (a)	29,50 (22,50; 37,00) (b)
VCM – fL	72,05 (70,50; 74,25) (a)	73,92 (69,94; 79,22) (a)
CHCM - %	33,00 (32,65; 33,65) (a)	31,82 (31,00; 32,40) (b)

Grupos representados pelas medianas, seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($P>0,05$), pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, para cada parâmetro.

Os parâmetros avaliados no eritrograma que apresentaram diferenças significativas entre os grupos foram a contagem de eritrócitos ($p<0,001$), a dosagem de hemoglobina ($p<0,001$), o hematócrito ($p<0,001$) e o CHCM ($p=0,001$). A contagem de eritrócitos, a dosagem de hemoglobina e o hematócrito do grupo de cães com doenças hepáticas apresentaram valores de medianas ($4,11 \times 10^6/\mu\text{L}$; $9,38 \text{ g/dL}$; $29,50 \%$, respectivamente) inferiores aos valores mínimos de referência utilizados neste estudo ($5,5 \times 10^6/\mu\text{L}$; 12 g/dL ; 37% , respectivamente). Isto caracteriza um quadro de anemia no grupo de animais com doenças hepáticas, estando de acordo com diversos autores (Feldman, 1981; Center *et al.*, 1995; Dial, 1995; Matos & Matos, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Tvedten & Weiss, 2000; Kerr, 2003).

Esta anemia pode ser atribuída a diversos fatores como envolvimento de medula óssea, como supressão ou produção defeituosa de eritrócitos nas doenças hepática inflamatórias por longos períodos (Feldman, 1981; Matos & Matos, 1995; Dial, 1995), por hemólise hiperesplênica na cirrose hepática (Feldman, 1981), por síntese diminuída de eritropoietina (juntamente com os rins, o fígado sintetiza pequena fração do total de eritropoietina pelas células de Kupffer), responsável pelo estímulo medular para produção de eritrócitos, como também a diminuição da síntese de trombopoietina, que estimula a produção de plaquetas (Gasper, 2000) ou ainda por hemólise devido a hemolisinas bacterianas na leptospirose canina (Stockham, 2000; Tvedten & Weiss, 2000; Kerr, 2003; Langston & Heuter, 2003; Thrall, 2004). A avaliação da medula óssea poderia trazer maiores informações acerca da produção de eritrócitos, porém não foi proposto neste estudo.

Quanto à avaliação da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), houve uma diferença significativa entre os grupos, sendo que o grupo de cães com doença hepática apresentou uma mediana ($31,82\%$) com valor inferior ao valor mínimo de referência (32%), denotando, assim, uma hipocromia. A ocorrência de hipocromia é pouco relatada (Kerr, 2003), sendo mais relacionada a

deficiências de ferro (Tvedten & Weiss, 2000; Rebar, 2003, Thrall, 2004), que podem ocorrer em doença hepática crônica devido a um inadequado retorno do ferro do sistema mononuclear fagocitário para a medula óssea (Silveira, 1988; Dial, 1995; Baker, 2003), o que levaria também a uma conseqüente microcitose (Tvedten & Weiss, 2000; Rebar, 2003), fato que não ocorreu neste estudo.

A avaliação do volume corpuscular médio (VCM) não apresentou diferença significativa entre os grupos e as medianas de ambos os grupos controle e doente (72,05fL e 73,92fL, respectivamente), se mantiveram dentro dos valores de referência considerados neste trabalho (60-77fL).

Junto à anemia, uma hipoproteinemia poderia estar presente, especialmente nos casos de perdas de sangue há mais de três dias ou por hemólise (Center *et al.*, 1995), o que não ocorreu neste estudo, pois na avaliação das proteínas plasmáticas totais (Tabela 6) não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0,869$).

Na avaliação do leucograma (Tabela 8) a contagem absoluta de leucócitos, de bastonetes e de monócitos não apresentou diferenças significativas entre os grupos ($p=0,117$; $p=0,065$ e $p=0,179$, respectivamente). Entretanto, a contagem absoluta de neutrófilos apresentou uma diferença significativa ($p=0,008$) entre os grupos, sendo que o grupo de cães com doenças hepáticas tiveram um valor de mediana (13.620 leucócitos/ μ L) superior ao valor máximo de referência (11.500 leucócitos/ μ L) considerado neste estudo, caracterizando desta forma, uma neutrofilia absoluta no grupo de animais com doenças hepáticas. A diferença entre os grupos controle e doente na avaliação da contagem absoluta de linfócitos foi significativa ($p<0,001$). O grupo de cães doentes apresentou um valor de mediana (670 linfócitos/ μ L) inferior ao valor mínimo de referência deste estudo (1.000 linfócitos/ μ L), caracterizando uma linfopenia absoluta neste grupo.

Tabela 8: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da contagem de leucócitos, bastonetes, neutrófilos segmentados, linfócitos, eosinófilos e monócitos nos grupos controle e de cães com doenças hepáticas.

Parâmetros	Grupo controle	Grupo hepatopata
Contagem de leucócitos x $10^3/\mu\text{L}$	11,80 (10,25; 13,98) (a)	16,20 (8,74; 20,39) (a)
Bastonetes x $10^3/\mu\text{L}$	0,00 (0,00; 0,00) (a)	0,00 (0,00; 0,19) (a)
Neutrófilos segmentados x $10^3/\mu\text{L}$	7,06 (5,45; 9,94) (a)	13,62 (7,80; 16,47) (b)
Linfócitos x $10^3/\mu\text{L}$	2,58 (1,78; 3,23) (a)	0,67 (0,39; 1,40) (b)
Eosinófilos x $10^3/\mu\text{L}$	0,94 (0,64; 1,49) (a)	0,18 (0,00; 0,52) (b)
Monócitos x $10^3/\mu\text{L}$	0,42 (0,23; 0,70) (a)	0,64 (0,26; 1,37) (a)

Grupos representados pelas medianas, seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($P>0,05$), pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, para cada parâmetro.

Em relação aos eosinófilos, apesar de ter apresentado uma diferença significativa entre os grupos ($p<0,001$), ambas as medianas dos grupos controle (940 eosinófilos/ μL) e doente (180 eosinófilos/ μL) estavam de acordo com os valores de referência deste estudo (100 – 1.250 eosinófilos/ μL). Portanto, esta diferença não possui valor clínico relevante, embora seja estatisticamente significativa.

Estes resultados assemelham-se aos da literatura que afirma haver uma neutrofilia e uma linfopenia nos processos inflamatórios severos com liberação de corticosteróides endógenos (Meyer *et al*, 1995; Schultze, 2000; Rebar, 2003).

Neste caso, uma leucocitose com ou sem desvio à esquerda poderia estar presente tanto na doença hepática aguda (Dial, 1995; Huges & King, 1995), quanto na doença hepática crônica (Meyer *et al.*, 1995; Schultze, 2000), embora alguns autores considerem bastante variáveis as respostas, como leucocitose, leucócitos normais e até leucopenia, de acordo com a doença hepática em questão e o grau de severidade da mesma (Dial, 1995; Hammer & Sikkema, 1995; Hughes & King, 1995; Langston & Heuter, 2003).

De um modo particular, na leptospirose canina normalmente ocorre uma leucocitose com valores entre 16.500 a 45.000 leucócitos/ μ L (Langston & Heuter, 2003) e na hepatite viral canina geralmente há uma leucopenia com neutropenia e linfopenia (Silveira, 1988; Meyer *et al.*, 1995, Schultze, 2000).

4.3. Perfil Bioquímico:

A avaliação do perfil bioquímico dos grupos de animais sadios e com doença hepática tem os resultados apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Medianas e percentis (P_{25} ; P_{75}) da atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), das dosagens séricas das proteínas totais (PT), da albumina e da globulina nos grupos controle e de cães com doença hepática.

Parâmetros	Grupo controle	Grupo hepatopata
ALT – UI/L	34,30 (27,20; 46,35) (a)	134,60 (96,40; 216,60) (b)
FA – UI/L	100,75 (85,15; 123,65) (a)	763,3 (498,75; 1233,25) (b)
Proteínas Totais – g/dL	6,85 (6,50; 7,30) (a)	5,85 (5,15; 7,65) (a)
Albumina – g/dL	3,30 (3,10; 3,55) (a)	1,85 (1,50; 2,75) (b)
Globulina – g/dL	3,80 (2,95; 4,15) (a)	3,70 (3,35; 5,65) (a)

Grupos representados pelas medianas, seguidas de mesma letra não diferem significativamente ($p > 0,05$), pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney, para cada parâmetro.

Os valores de avaliação da atividade enzimática sérica da ALT ($p < 0,001$), da FA ($p < 0,001$) e da dosagem sérica da albumina ($p < 0,001$) apresentaram uma diferença significativa entre os grupos.

O valor da mediana do ALT (134,6 UI/L) no grupo de animais com doença hepática, foi maior que o dobro (2,69 vezes) do valor limite superior de referência deste estudo (50 UI/L). Mesmo que a triagem dos animais doentes tenha sido feita com base no aumento da atividade sérica da enzima ALT, este resultado mostra a gravidade da destruição hepatocelular nos animais com doença hepática, segundo diversos estudos que correlacionaram o aumento desta enzima com avaliações histopatológicas do fígado (Willis *et al.*, 1989; Dial, 1995; Hughes & King, 1995; Kaneko, 1997; Tennant, 1997; Lassen, 2004).

A atividade sérica da enzima FA no grupo de cães com doença do fígado apresentou um valor de mediana (763,3 UI/L) 4,89 vezes superior ao valor de referência máximo considerado neste estudo (156 UI/L), o que confere um alto grau de severidade do comprometimento hepático, pois um aumento maior que o dobro do valor máximo de referência já é considerado relevante (Willis *et al.*, 1989; Tennant, 1997).

A dosagem da albumina sérica nos cães hepatopatas apresentou um valor de mediana (1,85 g/dL) inferior ao valor de referência mínimo (2,6 g/dL), caracterizando uma hipoalbuminemia.

Os demais parâmetros como a proteína total ($p=0,294$) e a globulina ($p=0,283$) não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Estes resultados bioquímicos estão de acordo com a literatura tanto em relação ao aumento sérico da atividade das enzimas ALT e FA, quanto da ocorrência de hipoalbuminemia em cães com doença hepática (Willis *et al.*, 1989; Dial, 1995; Dill-Macky, 1995; Hughes & King, 1995; Matos & Matos, 1995; Meyer *et al.*, 1995; Kaneko, 1997; Kramer & Hoffmann, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004).

Sabemos que ao considerarmos a hipoalbuminemia isoladamente não há como afirmar que existe insuficiência hepática; no entanto, aliado à história do animal, ao exame clínico com alterações indicativas de doença hepática, e aos demais exames, incluindo dosagens sérica da atividade das enzimas ALT e FA, à trombocitopenia e às alterações do coagulograma verificadas neste estudo, podemos concluir que esta diminuição da albumina sérica é atribuída a uma

síntese prejudicada pelo comprometimento hepático grave no grupo de animais com doença hepática.

Por fim, com a hipoalbuminemia significativa no grupo de cães doentes, era de se esperar uma conseqüente hipoproteïnemia (Center *et al.*, 1995) o que não ocorreu no presente estudo. Isto se explica pelo fato de que as proteínas séricas totais resultam do somatório da albumina (síntese exclusivamente em hepatócitos) e globulinas (síntese em hepatócitos e tecidos linfóides) (Kaneko, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003). Por isto, na insuficiência hepática, pode ocorrer uma hipoglobulinemia por síntese diminuída (Meyer *et al.*, 1995; Kaneko, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004). Por outro lado, na doença hepática crônica e grave, a globulina pode estar aumentada devido a uma resposta imune desencadeada por antígenos expostos continuamente, estimulando a síntese de IgM, IgG e IgA (Sutherland, 1989; Kaneko, 1997; Tennant, 1997; Kerr, 2003; Lassen, 2004).

Postula-se que este estímulo antigênico seja provocado por um aumento de proteínas estranhas não removidas pelas células de Kupffer devido à teórica diminuição das mesmas na doença hepática crônica dos animais (Lassen, 2004). No presente estudo, não houve diferença significativa na avaliação da globulina entre os grupos de cães controle e com doença hepática. Para uma melhor avaliação destes resultados, seria necessário o fracionamento eletroforético das proteínas, da albumina e das globulinas, o que não foi proposto neste estudo.

Considerações finais

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Além dos objetivos deste trabalho de avaliação do perfil hemostático, hematológico e bioquímico em cães com doença hepática, alguns achados foram relevantes ou pelo menos nos colocaram em questionamentos que podem gerar futuros estudos para melhor esclarecer ou até facilitar a interpretação dos exames laboratoriais na avaliação da doença hepática em cães. Por esta razão acrescentamos algumas considerações com o intuito de partilhar estes questionamentos.

Em primeiro lugar, a triagem dos casos foi feita baseada na dosagem do ALT > 50UI/L na rotina do Laboratório de Patologia Clínica da FMVZ/Unesp. Os cães selecionados, na grande maioria, estavam internados no setor de moléstias infecciosas, sendo então marcada a colheita do sangue para a manhã seguinte, antes de qualquer procedimento. Nesta rotina pudemos observar que muitos animais que apresentaram valores muito elevados de ALT (>300 UI/L), vieram a óbito antes do amanhecer, não sendo possível realizar a colheita de sangue. Destes cães apenas quatro suportaram além das 24 horas, e 1 destes veio a óbito alguns dias após. Muitos estudos comprovam a especificidade da ALT em cães com doença hepática, inclusive com estreita correlação entre atividade enzimática sérica e mudanças histopatológicas (Dial, 1995; Hughes & King, 1995; Tennant, 1997; Lassen, 2004), sendo por isto amplamente utilizado no diagnóstico de doenças hepáticas, no entanto, ao se tratar do prognóstico quase não se consideram os valores elevados da ALT. Devido a este fato, o uso de valores muito elevados da atividade sérica da enzima ALT como referência para a triagem de animais com objetivo de estudos deve ser evitado.

Na avaliação do perfil hemostático, se formos calcular a prevalência da trombocitopenia e dos parâmetros de avaliação do coagulograma prolongado no grupo doente a exemplo de estudos anteriores (Badylak & Van Vleet, 1981; Prater, 2000), a contagem de plaquetas foi inferior ao valor mínimo de referência (200.000/ μ L – Baker, 2004) em 15 cães dentre os 20 cães do grupo de animais doentes (75%). Dentre os cães trombocitopênicos, 6 (40%) apresentaram uma

contagem de plaquetas inferior a 20.000 plaquetas/ μ L, fato que impediria a realização de quaisquer procedimentos invasivos, tais como citologia aspirativa, biopsia ou cirurgia (Meyer, 2003).

A prevalência das alterações do TP e / ou TTPA no grupo de cães com doenças hepáticas foi de 60%. Este resultado está de acordo com Badylak & Van Vleet (1981) que aponta uma prevalência de 66% de alterações do TP e /ou TTPA em cães com doenças hepáticas de ocorrência natural, confirmado por Prater (2000), e se assemelham aos resultados obtidos em estudo similar com gatos (Lisciandro *et al.*, 1998).

O TP mostrou-se prolongado em 55% (11 entre 20) dos cães com doenças hepáticas, valor um pouco acima do encontrado em estudos anteriores (Badylak, 1981; Badylak *et al.*, 1983) que relatam valores prolongados do TP em 53% e 50% , respectivamente, em cães com doença hepática de ocorrência natural; já o TTPA aumentou em 50% dos animais doentes neste estudo (10 dentre 20 cães), valor intermediário entre os estudos anteriores (41% e 75%, respectivamente). A tendência de alteração do TTPA sobre o TP é também relatada nestes estudos com cães, gatos e humanos com doença hepática crônica de baixo grau (Badylak *et al.*, 1983; Center *et al.*, 1995; Lisciandro *et al.*, 1998; Prater, 2000), como já discutido anteriormente. Neste estudo quatro cães hepatopatas (20%) apresentaram TTPA prolongado com TP normal, três (15%) com TP prolongado e TTPA normal e 7 (35%) com ambos prolongados. Se considerarmos como causa principal a insuficiência hepática, a alteração do TP sobre o TTPA e de ambos é facilmente justificada pela deficiência na produção dos fatores da coagulação, a começar pelo fator VII que altera o TP e tem a meia vida mais curta (4 a 6 horas), seguindo os demais fatores V, II, X, XI e IX, que alteram ambos TP e TTPA, porém, difícil é associar a alteração do TTPA precedendo o TP com a doença hepática. Apesar de alguns autores considerarem um achado normal em hepatopatias crônicas de cães, a justificativa da deficiência apenas do fator XII deixa a desejar ao se tratar de insuficiência hepática. Acredito que outros estudos devam ser feitos para elucidar melhor este achado, talvez a dosagem dos referidos fatores em cães com doença hepática de ocorrência natural, com a classificação da alteração hepática por histopatologia ou ultra-sonografia, ou

indução experimental de hepatopatia aguda, avançando para hepatopatia crônica, aliada a avaliações periódicas dos fatores de coagulação junto ao coagulograma, histopatologia e/ou ultra-sonografia.

O tempo de coagulação também surpreendeu não somente nos resultados apresentados, com um nível de significância mais consistente do que o TP, mas também por não ter muitos estudos avaliando o seu uso no diagnóstico e prognóstico das coagulopatias, especialmente por ser um método simples, de baixo custo e facilmente aplicável à rotina ambulatorial. Com isto, podemos questionar sobre o número de informações que poderiam ser obtidas ou ainda detectar o avanço de desequilíbrios hemostáticos precocemente, como o início de um quadro de CID, se ao menos o tempo de coagulação fizesse parte do protocolo de avaliação hepática na clínica de pequenos animais.

Em relação à avaliação das proteínas, ocorreu uma hipoalbuminemia marcante sem alterações das proteínas totais e das globulinas. Este fato provavelmente deve ter sido influenciado pelos níveis séricos da globulina nos animais com doença hepática, que apresentaram uma prevalência de 45% (9 entre 20 cães) com dosagens normais de globulina, 40% (8 animais) com hiperglobulinemia e 15% (3 cães) com hipoglobulinemia, o que nos mostra uma variabilidade de respostas neste grupo. Desta forma, podemos concluir que a avaliação apenas das proteínas totais sem o fracionamento em albumina e globulina não teria um resultado para a avaliação da doença hepática dos cães.

Conclusões

6.CONCLUSÕES

1 – Nas doenças hepáticas de ocorrência natural em cães há alteração do perfil hemostático manifestado por uma trombocitopenia e por um tempo de coagulação, TP e TTPA prolongados;

2 – Para a avaliação do perfil hemostático da doença hepática em cães, as determinações em conjunto do TTPA, do tempo de coagulação e do TP são mais consistentes do que as determinações isoladas dos mesmos;

3 – Cães com doenças hepáticas de ocorrência natural apresentam alterações hematológicas como anemia hipocrômica, neutrofilia sem desvio à esquerda e linfopenia;

4 – O perfil bioquímico de cães com doença hepática apresenta hipoalbuminemia com um aumento da atividade sérica das enzimas fosfatase alcalina e alanina aminotransferase;

7. REFERÊNCIAS*

ABDELKADER, S.V.; HAUGE, J.G. Serum enzyme determination in the study of liver disease in dogs. **Acta Vet. Scand.**, Copenhagen, v.27, n.1, p.59-70, 1986.

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.

AMWER, M.S.; MEYER, D.J. Bile acids in the diagnosis, pathology, and therapy of hepatobiliary diseases. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.503-517, mar. 1995.

BADYLAK, S.F. Coagulation disorders and liver disease. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.18, n.1, p.87-93, jan. 1988.

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.

BADYLAK, S.F.; VAN VLEET, J.F. Tissue gamma-glutamyl transpeptidase activity and hepatic ultra structural alterations in dogs with experimentally induce glucocorticoid hepatopathy. **Am. J. Vet. Res.**, Chicago, v.43, n.6, p.649-655, apr. 1982.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

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.

BERNSTEIN, D. Effectiveness of the recombinant factor VIIa in patients with the coagulopathy of advanced child's B and C cirrhosis. **Semin. Thromb. Hemost.**, New York, v.26, n.4, p.437-438, aug. 2000.

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.

BURKHARD, M.J.; MEYER, D.J. Invasive cytology of internal organs: cytology of the thorax and abdomen. **Vet. Clin North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.26, n.5, p.1203-1222, sep. 1996.

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.

COLES, E.H. Função Hepática. In: COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. cap.7, p.185-219.

CRAWFORD, J.M. O fígado e o trato biliar. In: COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins patologia estrutural e funcional**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap.19, p.759-808.

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.

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

Del OLMO, J.A.; PENA, A.; SERRA, M.A.; WASSEL, A.H.; BENAGES, A.; RODRIGO, J.M. Predictors of morbidity and mortality after the first episode of upper gastrointestinal bleeding in liver cirrhosis [Original Articles: Cirrhosis and its Complications]. **J. Hepatol.**, Copenhagen, v.32, n.1, p.19-24, jan. 2000.

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.

EWING, S.A. Exames parasitológicos. In: COLES, E.H. **Patologia clínica veterinária**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1984. cap.18, p. 454-518.

FARRAR, E.T.; WASHBAU, R.J.; SAUNDERS, H.M. Hepatic abscesses in dogs: 14 cases (1982-1994). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg, v.208, n.2, p.243-247, jan. 1996.

FELDMAN, B.F. Anemias associated with blood loss and hemolysis. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.11, n.2, p.265-275, may. 1981.

GASPER, P.W. Stem cell biology. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. Baltimore: 5.ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.12, p. 69-73.

GHOLSON, C.F.; PROVENZA, J.M.; BACON, B.R. Hepatologic considerations in patients with parenchymal liver disease undergoing surgery. [Review][68 refs]. **Am. J. Gastroenterol.**, Baltimore, v.85, n.5, p.487-496, may.1990.

GOPEGUI, R.R.; MONREAL, L. Anticoagulant and fibrinolytic drugs. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap. 87, p.581-594.

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.

HAMMER, A.S.; SIKKEMA, D.A. Hepatic neoplasia in the dog and cat. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.419- 435, mar. 1995.

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, 1993. 417p.

JANSEN, H.L.A. Role of coagulation in the natural history and treatment of portal vein thrombosis [Editorials]. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, Victoria, v.16, n.6, p.595-596, jun. 2001.

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.

JOHNSON, G.F.; ZAWIE, D.A.; GILBERTSON, S.R.; STERNLIEB, I. Chronic active hepatitis in Doberman pinschers. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, Schaumburg, v.180, n.12, p.1438-1442, jun.1982.

KANEKO, J.J. **Standard values in domestic animals**. Department of Clinical Pathology. 3.ed. Davis: University of California, 1973.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. cap.5, p.117-138.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Appendixes. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. P.885-905.

KERR, M.G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica clínica e hematologia**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003. 436 p.

KERWIN, S.C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.25, n.2, p.275-291, mar. 1995.

KIRBI, R.; RUDLOFF, E. Acquired coagulopathy VI: disseminated intravascular coagulation. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.86, p.579-580.

KRAMER, J.W.; HOFFMANN, W.E. Clinical enzymology. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5.ed. New York: Academic Press, 1997. cap.12, p.303-325.

KRISTENSEN, A.T.; EDWARDS, M.L.; DEVEY, J. Potential uses of recombinant human factor VIIa in veterinary medicine. **Vet. Clin. Small Anim.**, Philadelphia, v.33, p.1437-1451, 2003.

LANGSTON, C.E.; HEUTER, K.J. Leptospirosis a re-emerging zoonotic disease. **Vet. Clin. Small Anim.**, Philadelphia, v.33, p.791-807, 2003.

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.

LUMSDEN, J.H.; JACOBS, R.M. Clinical chemistry: In-clinic analysis, quality control, reference values, and system selection. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.19, n.5, p.875-897, sep. 1989.

MAMPRIM, M.J. **Doença hepática difusa em cães: estudo ultra-sonográfico comparativo com exames bioquímicos, biopsia e citologia aspirativa com agulha fina**. 1999. 102p. Tese (Doutorado em Cirurgia Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MATOS, M.S.; MATOS, P.F. **Laboratório clínico médico-veterinário**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1985. 238p.

MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K.D. Normal hematology of the dog. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.163, p.1057-1063.

MEYER, D.J. Fígado. In: RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003. cap.8, p.193-211.

MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinária**. Interpretação e diagnóstico. São Paulo: Roca, 1995. 308p.

MEYER, D.J.; HARVEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine**. interpretation & diagnosis. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998. 373p.

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.

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.

PRATER, M.R. Acquired coagulopathy II: liver disease. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000b. cap.82, p.560-564.

REBAR, A.H.; MACWILLIAMS, P.S.; FELDMAN, B.F.; METZGER JR., F.L.; POLLOCK, R.V.H.; ROCHE, J. **Guia de hematologia para cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003. 291p.

ROMERO CASTRO, R.; BARROSO RELINQUE, N.; CAUNEDO ALVAREZ, A.; GARCIA MONTES, J.M.; HERRERIAS GUTIERREZ, J.M. Use of recombinant factor VII in hepatology. **Rev Espanola Enfermedades Dig.**, Madrid, v.93, p.664-668, oct. 2001.

RUSSELL, K.E.; GRINDEM, C.B. Secondary thrombocytopenia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.69, p.487-495.

SAKATE, M. Terapêutica das intoxicações. In: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002. cap.21, p.523-555.

SILVEIRA, J.M. **Patologia clínica veterinária: teoria e interpretação**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 196p.

SCHULTZE, A.E. Interpretation of canine leukocyte responses. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.55, p.366-381.

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

SUTHERLAND, R. J. Biochemical evaluation of the hepatobiliary system in dogs and cats. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, Philadelphia, v.19, n.5, p.899-927, sep. 1989.

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.

TAKAHIRA, R. **Alterações hemostáticas, hematológicas e bioquímicas de cães no envenenamento experimental por *Bothrops jararaca* (Wied, 1824) e *Bothrops newiedii* (Wangler, 1824)**.1996. 177p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

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.

THAMM, D.H.; HELFAND, S.C. Acquired Coagulopathy III: Neoplasia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.83, p.565-570.

THRALL, M.A. Regenerative anemia. 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. 8, p.95-119.

TOSTES, R.A.; BANDARRA, E.P. Biopsia hepática em cães: relação entre a qualidade da amostra e grau de conclusão do diagnóstico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Local, v.54, n.5, p.468-472, out. 2002.

TVEDTEN, H.; WEISS, D.J. Classification and laboratory evaluation of anemia. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. cap.25, p.143-150.

VAN VLEET, J.F.; ALBERTS, J.O. Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic bile duct obstruction in the dog. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.9, n.11, p.2119-2131, nov. 1968.

WILLIS, S.E.; JACKSON, M.L.; MERIC, S.M.; ROUSSEAU, C.G. Whole blood platelet aggregation in dogs with liver disease. **Am. J. Vet. Res.**, Schaumburg, v.50, n.11, p.1893-1897, nov. 1989.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1996.718p.

Abstract

Mendonça, A.J. Evaluation of the hemostatic, hematological and chemistry profiles in dogs with liver disease. Botucatu, 2004. 62p. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Abstract

The small animal practice has been advancing in liver diseases diagnosis. Several laboratory assays are sensible liver diseases indicators in dogs, however, other valuable assays as the hemostasis evaluation tests are seldom requested. The purpose of this study was to evaluate the hemostatic, hematological and chemistry profiles in dogs with liver diseases. Forty four animals divided in two groups were used. Twenty dogs with historical and/or clinical evidence of liver disease, from the Veterinary Hospital of Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp/ Campus de Botucatu were selected on the basis of increased serum alanine aminotransferase activity (ALT) > 50 UI/L. The control group was formed by 24 adult healthy dogs, from particular owners. All animals were submitted to the same laboratory tests: count blood cells (CBC), platelet count, coagulation time, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), serum ALT and alkaline phosphatase (ALP) activities, total plasma protein, total serum protein, albumin, globulin and fibrinogen determinations. The results were compared with Student t-test and Mann-Whitney rank sum test. It was concluded that liver diseases in dogs lead to changes in the hemostatic, hematological and chemistry profile, characterized by thrombocytopenia, prolonging of coagulation time, PT and APTT, hypochromic anemia, neutrophilia without left shift, lymphopenia, hypoalbuminemia and increased ALP and ALT serum activities.

KEY-WORDS: Liver disease; dog; hematology; biochemistry; coagulation disorders; hemostasis.