



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências da Saúde
Curso de Graduação em Farmácia
Trabalho de Conclusão de Curso

Giulia Maurissens

**HEMOFILIA CANINA DO TIPO A CONGÊNITA:
uma revisão de literatura**

Florianópolis

2018

GIULIA MAURISSENS

**HEMOFILIA CANINA DO TIPO A CONGÊNITA:
uma revisão de literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação em Farmácia do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade Federal
de Santa Catarina como requisito para a
obtenção do Título de Bacharel em Farmácia
Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Carolina Rabello
de Moraes

Florianópolis

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me dar força e coragem durante todo o decorrer da graduação.

Aos meus pais, pela paciência, dedicação e amor que sempre me deram, e aos meus irmãos, por me aconselharem e me ajudarem a manter a calma sempre que parecia que eu não ia conseguir.

Agradeço a todas as pessoas que fizeram parte dessa etapa tão grande da minha vida, em especial ao meu namorado, cujo companheirismo foi indispensável durante essa caminhada.

Agradeço a todos os professores e sua disposição a ensinar-nos, principalmente à minha professora orientadora, pois sua paciência e sua dedicação foram fundamentais para que esse trabalho se concretizasse.

Meus agradecimentos não seriam completos se eu não mencionasse meu cãozinho, a Mel, e a todos os outros bichinhos por me inspirarem a seguir uma vida de amor animal.

RESUMO

Segundo a resolução nº 442 de 21 de fevereiro de 2006, o Farmacêutico é competente para realizar exames laboratoriais e exercer responsabilidade técnica pelos laboratórios de análises clínicas médico-veterinários. Visto que o diagnóstico de hemofilia A canina é essencialmente laboratorial e que o tratamento é dependente de hemocomponentes produzidos em bancos de sangue, fica evidente que uma revisão sobre a hemofilia A canina congênita pode exemplificar a inserção do profissional farmacêutico na área veterinária, ressaltando a importância de sua participação na preocupação com o bem estar animal, destacando a rentabilidade desse setor, pois o crescimento na população de cães e gatos abre espaço para que haja maiores investimentos na área de prestação de serviços de alto custo para o mercado de animais de estimação. Muitos de tais serviços podem contar com a formação do farmacêutico para a sua melhor realização, há bancos de sangue, farmácias e laboratórios especializados, todos cuja participação do profissional farmacêutico é essencial. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão narrativa sobre hemofilia canina do tipo A congênita. Para a realização deste trabalho, foi feita uma revisão da literatura, levantando dados a partir de *sites* de instituições públicas ou privadas, livros textos, *sites* de organizações nacionais e internacionais, e das bases de dados PubMed, Google Acadêmico, Wiley Library, Lilacs, Scielo, Biblioteca Virtual em Saúde, entre outras. No presente estudo, foram levantadas informações sobre a fisiopatologia, histórico, prevalência, tratamento e métodos diagnósticos de hemofilia A canina. As buscas foram feitas utilizando-se o descritor “hemofilia A canina” e, para refinamento, foram acrescentados os seguintes termos: “tratamento não-transfusional”, “diagnóstico laboratorial”, “tratamento com crioprecipitado”, “histórico”, “fisiopatologia em cães”, “diagnóstico clínico” e “possibilidade prognóstica”. Os termos foram utilizados em português e em inglês. A partir da leitura dos títulos e resumos, foram selecionadas publicações e matérias relevantes para elaboração do trabalho. Com base na pesquisa bibliográfica, verificou-se que a hemofilia canina do tipo A é uma coagulopatia com clínica inespecífica e, por isso, o diagnóstico e acompanhamento laboratorial da doença deve ser enfatizado, já que este vai possibilitar a confirmação do diagnóstico. As práticas laboratoriais aprendidas durante a graduação do Curso de Farmácia podem ser aplicadas ao meio veterinário e a importância do diagnóstico laboratorial enunciada no presente trabalho evidenciou o papel do profissional farmacêutico no diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos cães com hemofilia A congênita.

Palavras-chave: Hemofilia. Diagnóstico. Tratamento. Farmacêutico.

CONGENITAL TYPE A CANINE HEMOPHILIA: a literature review

According to Brazilian Resolution No. 442 of February 21, 2006, the Pharmacist is competent to take on technical responsibility of medical veterinary clinical analysis laboratory. Since the diagnosis of type A canine hemophilia is essentially laboratorial and that the treatment is dependent of hemocomponents produced by blood banks, it is evident that a review on congenital type A; canine hemophilia can exemplify the role of the pharmacist in the veterinary field. Emphasizing the importance of their participation in the concern for animal welfare and highlighting the profitability of this sector, since the growth of dogs and cats populations opens space for greater investments in the pet market. Many of these services can rely on the qualification of the pharmacist for its best performance; there are blood banks, pharmacies and specialized laboratories, in which the pharmaceutical actuation is essential. Therefore, the aim of this study was to carry out a narrative review on congenital type A canine hemophilia. For that reason, a review of the literature was made, raising data from sites of public or private institutions, textbooks, websites of national and international organizations, and PubMed, Google Scholar, Wiley Library, Lilacs, Scielo, Virtual Health Library, among others databases. In the present study, information on the pathophysiology, history, prevalence, treatment and diagnostic methods of type A haemophilia was collected. The search was done using the descriptor "hemophilia A canine" and, for refinement, were added: "Non-transfusional treatment", "laboratory diagnosis", "treatment with cryoprecipitate", "history", "dogs pathophysiology", "clinical diagnosis" and "prognostic possibility". The terms were used in Portuguese and English. From the reading of the titles and abstracts, publications and relevant materials were selected for the elaboration of the work. Based on the literature, it was verified that canine type A hemophilia is a coagulopathy with a non-specific symptoms, therefore, the laboratory follow-up of the disease should be emphasized, since this will make possible to confirm the diagnosis. The knowledge about laboratory practices and exams learned during the Pharmacy Course may be applied to the veterinary field and the importance of the laboratory diagnosis set forth in the present paper evidenced the role of the pharmacist in the diagnosis, follow up and treatment of dogs with congenital type A hemophilia.

Keywords: Hemophilia. Diagnosis. Treatment. Pharmacist.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. As vias e os fatores da hemostasia secundária.....	16
Figura 2. A extensão e a localização da fase de leitura aberta no gene do FVIII.....	21
Figura 3. Fator VIII com destaque para os domínios que permitem a sua interação com o fator de von Willebrand.....	22
Figura 4. Inchaço na pata traseira de pastor belga devido à hemartrose.....	25
Figura 5. Equimose subcutânea em Pastor Alemão.....	26
Figura 6. Hematoma abdominal em cão da raça Daschound.....	26
Figura 7. Petéquias abdominais em um cão sem raça definida.....	27
Figura 8. Teste do TSMB.....	31
Figura 9. Métodos manuais para identificação de coágulo.....	31
Figura 10. Fluxograma do processamento dos componentes do plasma.....	39

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Anamnese feita com o cuidador do animal para estreitamento do diagnóstico clínico.....	28
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo dos casos reportados de hemofilia A canina (1990 - 1996).....	23
Tabela 2. Resultados laboratoriais de testes de triagem segundo o tipo de deficiência de fator.....	29
Tabela 3. Resultados do hemograma de um Poodle comum de 6 meses com hemofilia A e valores de referência para cães de 6 a 12 meses.....	30
Tabela 4. Classificação da gravidade da hemofilia A baseada no resultado de fator VIII coagulante (FVIII:C).....	36
Tabela 5. Tipos sanguíneos caninos, sua denominação e incidência aproximada.....	40
Tabela 6. <i>Guidelines</i> de dosagem para componentes do plasma.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
ADP	Adenosina difosfato
AP-t	Ativador do Plasminogênio tecidual
C	Citosina
CRF	Conselho Regional de Farmácia
DvW	Doença de von Willebrand
FI	Fator I ou fibrinogênio
FIIa	Fator I ativado ou fibrina
FII	Fator II ou protrombina
FIIa	Fator II ativado ou trombina
FIX	Fator IX
FIXa	Fator IX ativado
FT	Fator tecidual
FVa	Fator V ativado
FVII	Fator VII
FVIIa	Fator VII ativado
FVIII	Fator VIII
FVIII:Ag	Fator VIII antígeno ou residual
FVIII:C	Fator VIII coagulante
FVIIIa	Fator VIII ativado
FvW	Fator de von Willebrand
FX	Fator X
FXa	Fator X ativado
FXI	Fator XI
FXIa	Fator XI ativado
FXII	Fator XII
FXIIa	Fator XII ativado
G	Guanina
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio
PF	Plasma fresco
PFC	Plasma fresco congelado
PL	Fosfolipídeo

T	Timina
TAC	Tempo de coagulação ativada
TAFI	Inibidor de Fibrinólise ativado pela Trombina
TP	Tempo de protrombina
TSBM	Tempo de sangramento da mucosa bucal
TT	Tempo de trombina
TTPa	Tempo de tromboplastina parcial ativada
UTR	Regiões não traduzidas, do inglês <i>untranslated regions</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. METODOLOGIA.....	14
4. REVISÃO DA LITERATURA.....	15
4.1 SANGUE.....	15
4.2 HEMOSTASIA.....	15
4.2.1 Hemostasia Primária.....	15
4.2.2 Hemostasia Secundária.....	16
4.2.3 Hemostasia Terciária.....	18
4.3 DISTÚRBIOS DA HEMOSTASIA.....	19
4.4 HEMOFILIA A.....	19
4.4.1 Histórico.....	19
4.4.2 Fisiopatologia.....	20
4.4.3 Prevalência.....	23
4.4.4 Diagnóstico.....	24
4.4.4.1 Aspectos Clínicos.....	25
4.4.4.2 Diagnóstico Laboratorial.....	28
4.4.5 Tratamento.....	37
4.4.6 O papel do farmacêutico na hemofilia a.....	43
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil possui a segunda maior população mundial de cães, gatos e aves canoras e ornamentais, e ocupa o quarto lugar em população total de animais de estimação (ABINPET, 2017). A grande população animal do país levou ao crescimento do mercado *pet*. Em 2016, o faturamento do segmento *pet* no Brasil foi de R\$ 18,9 bilhões, e em 2017, houve um crescimento de 7,9%, com um faturamento de R\$ 20,3 bilhões. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), o Brasil é o país com o terceiro maior faturamento nesta área no mundo, e o setor *pet vet*, que compreende a área da saúde, em que há ampla diversidade de produtos e serviços oferecidos, como planos de saúde criados especialmente para clientes veterinários, é responsável por 7,9% deste faturamento (ABINPET, 2017). O crescimento do segmento abre espaço para que haja maiores investimentos e, conseqüente, aumento do mercado de trabalho na área de prestação de serviços de alto custo para o mercado de animais de estimação. Segundo a resolução nº 442 de 21 de fevereiro de 2006, o Farmacêutico inscrito no Conselho Regional de Farmácia (CRF) é competente para realizar exames laboratoriais e exercer responsabilidade técnica em laboratórios de análises clínicas médico-veterinários. Dessa forma, a ampliação do mercado *pet vet* também representa um potencial aumento do mercado de trabalho do profissional farmacêutico, que pode atuar tanto na parte de fármaco e medicamentos, quanto na área de diagnóstico laboratorial.

Apesar de já regulamentada, a atuação do profissional farmacêutico na área veterinária ainda é pequena e encontra-se em desenvolvimento. Durante o Curso de Graduação em Farmácia, pouco é falado sobre a atuação do farmacêutico em tal área. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi ressaltar a importância da participação do farmacêutico no diagnóstico e no tratamento de animais. Para tanto, escolheu-se realizar uma revisão da literatura sobre hemofilia A canina congênita.

O diagnóstico de hemofilia A fundamenta-se essencialmente em exames laboratoriais, tanto os de triagem quanto os específicos. Dessa forma, o farmacêutico pode ter um papel fundamental dentro da área de saúde animal, realizando e auxiliando na interpretação de exames laboratoriais, para, enfim, tornar mais clara a clínica do paciente.

Atualmente, as famílias têm buscado cada vez mais melhorar a qualidade de vida de seus animais de estimação. Deste modo, donos têm investido em tratamentos que até recentemente eram restritos aos seres humanos, como o tratamento da hemofilia A. Nesse contexto, o farmacêutico também pode auxiliar, atuando em bancos de sangue

veterinários, no serviço de hemoterapia e na produção e controle de qualidade de hemocomponentes específicos para caninos.

A hemofilia A canina é uma doença pouco presente na rotina de clínicas e hospitais veterinários. Contudo, quando diagnosticada, ela deve ser tratada rápida e efetivamente (SWENSON, 1996). No momento atual, as opções de tratamento para a hemofilia A em cães são bastante limitadas, uma vez que alternativas terapêuticas já disponíveis para tratamento humano, como fator FVIII (FVIII) recombinante com maior tempo de meia-vida, ou terapia genética e de engenharia de tecidos que corrigem a deficiência de FVIII, ainda não são aplicadas rotineiramente em animais (THRALL, 2015). Nesse contexto, o farmacêutico também pode atuar por meio da realização e participação em estudos que objetivem desenvolver terapias mais efetivas para caninos.

Dessa forma, a hemofilia A canina, mesmo que rara, possui diversos exemplos de inserção e atuação do farmacêutico. No presente trabalho, busca-se abordar essa coagulopatia de tal forma que, além de aprofundar os conhecimentos sobre ela, possa haver uma melhor compreensão das múltiplas formas de como o farmacêutico é capaz de atuar na área veterinária.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão narrativa sobre hemofilia canina do tipo A congênita.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão narrativa sobre hemofilia canina tipo A, enfatizando o diagnóstico laboratorial e tratamento da doença;
- Evidenciar o papel do profissional farmacêutico no diagnóstico, acompanhamento e tratamento dos cães com hemofilia A.

3 METODOLOGIA

A revisão de literatura narrativa não exige uma predeterminação das fontes para a sua confecção (CORDEIRO et al., 2007). O autor de um artigo de revisão narrativa faz a seleção das publicações de forma exploratória, não exigindo uma definição de critérios explícitos para a inclusão dos documentos, de acordo com seu viés (ROTHER, 2007).

De tal modo, para realizar o presente trabalho, foi realizada uma revisão da literatura, levantando dados a partir de *sites* de instituições públicas ou privadas, livros, textos, *sites* de organizações nacionais e internacionais, e das bases de dados PubMed, Google Acadêmico, Wiley Library, Lilacs, Scielo, Biblioteca Virtual em Saúde, entre outras. No presente estudo, foram levantadas informações sobre a fisiopatologia, histórico, prevalência, tratamento e métodos diagnósticos de hemofilia A canina congênita. As buscas foram realizadas utilizando-se o descritor “hemofilia A canina” e, para refinamento, foram acrescentados os seguintes termos: “tratamento não-transfusional”, “diagnóstico laboratorial”, “tratamento com crioprecipitado”, “histórico”, “fisiopatologia em cães”, “diagnóstico clínico” e “possibilidade prognóstica”. Os termos foram utilizados em português e em inglês. A partir da leitura dos títulos e resumos, foram selecionadas publicações e matérias relevantes para elaboração do trabalho.

4 REVISÃO DA LITERATURA

4.1 O SANGUE

O sangue é um tecido conjuntivo líquido presente em animais, que circula por um sistema fechado composto por vasos. O sistema circulatório é o responsável por criar a energia necessária para que o sangue circule e seja, assim, distribuído por todo o organismo. Em geral, o movimento do sangue mantém as células suficientemente dispersas, porém, se uma amostra de sangue é mantida em repouso e se evita que ela coagule mediante a adição de anticoagulante, os elementos celulares se depositam no fundo do recipiente e, assim, separa-se o elemento líquido, que recebe o nome de plasma (BOZZINI, 2004). Muitas características atribuídas ao plasma são funções dos seus componentes proteicos, os quais auxiliam na manutenção da pressão osmótica intravascular, no transporte de vários constituintes plasmáticos, no mecanismo de coagulação e na proteção do organismo pelos anticorpos humorais (BANKS, 1991).

4.2 HEMOSTASIA

Para que o sangue possa difundir-se pelo organismo sem perder a sua natureza fluida e sem “escapar” do sistema circulatório, é necessário que haja um equilíbrio entre diversos fatores vasculares e sanguíneos. O conjunto desses fatores e a manutenção do seu equilíbrio são chamados de hemostasia. Didaticamente, a hemostasia pode ser dividida em: i) hemostasia primária, que envolve a atuação de vasos e plaquetas; ii) hemostasia secundária, em que ocorre a coagulação; e iii) hemostasia terciária ou fibrinólise (CONTRAN, 2002).

4.2.1 Hemostasia primária

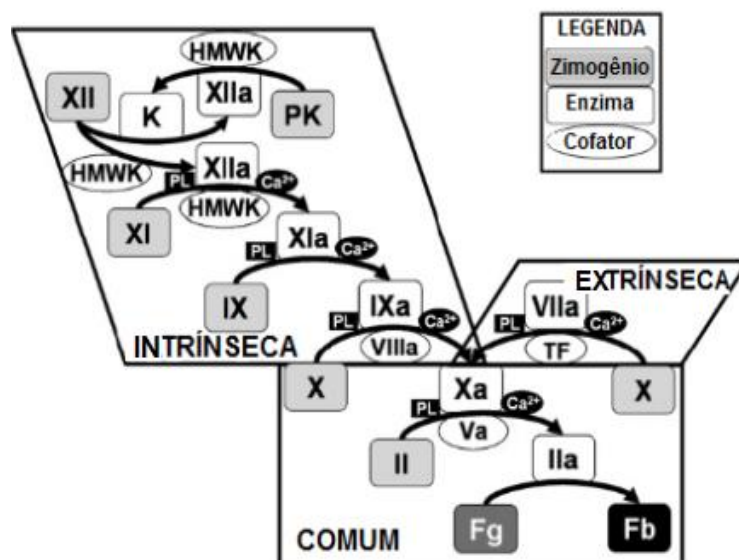
Fisiologicamente, quando ocorre lesão de um vaso, deve haver uma resposta rápida do sistema hemostático, de forma que haja a formação de um tampão hemostático que irá impedir a perda sanguínea. Um dos primeiros eventos que ocorre após a lesão vascular é a contração do músculo liso da parede do vaso comprometido. Em sequência, há a exposição do subendotélio rico em colágeno. Uma vez exposto, as plaquetas interagem com os constituintes da matriz extracelular, que incluem o colágeno, os proteoglicanos, a fibronectina e outras glicoproteínas aderentes (CONTRAN, 2000). Ocorre, então, a aderência das plaquetas circulantes ao sítio da lesão, fenômeno que é facilitado pelo fator de von Willebrand (FvW), um co-fator essencial à ligação plaquetária

ao colágeno e outras superfícies. Após a adesão da plaqueta ao endotélio, iniciam-se os processos de ativação, secreção e agregação plaquetária, o que resultará na formação de um tampão plaquetário instável (COTRAN, 2000).

4.2.2 Hemostasia secundária

Simultaneamente à formação do tampão plaquetário, acontece a ativação da hemostasia secundária ou coagulação, que consiste na conversão de uma proteína solúvel do plasma, o fibrinogênio (FI), em sua forma ativa, a fibrina (FIa), por ação de uma enzima denominada trombina (FIIa) (BOZZINI, 2004; SWENSON, 1996). Os mecanismos bioquímicos de formação do coágulo sanguíneo envolvem uma sequência de interações entre proteínas que são ativadas por uma série de etapas sequenciais, onde o substrato para cada enzima (ou complexo enzimático) é uma pró-enzima que é ativada para atuar na próxima etapa da reação. Os fatores envolvidos nessa cascata de interações são enzimas proteolíticas na forma inativa (zimogênios), que quando ativadas promovem reações sucessivas em cascata, o que motivou o uso do termo “cascata da coagulação” (GUYTON; HALL, 2006). Didaticamente, a coagulação é dividida em via extrínseca e intrínseca, que terminam em uma via comum (Figura 1) (SCHALM, 2010).

Figura 1 - As vias e os fatores da hemostasia secundária.



HMWK – cininogênio de alto peso molecular; TF – fator tecidual; Fg – fibrinogênio; Fb – fibrina; PK – pré-caliceína; K – caliceína. Adaptado de: SCHALM (2010).

A via extrínseca da coagulação requer fator tecidual (FT) para a sua ativação. O FT é uma glicoproteína integral de membrana que fica localizada na camada adventícia

dos vasos e entra em contato com o sangue apenas quando há lesão vascular (MAYNARD et al., 1975, 1977; BACH; NEMERSON, 1981; WEISS et al., 1989). Essa glicoproteína tem alta afinidade pelo fator VII (FVII) que circula no sangue tanto na sua forma ativa quanto na inativa (BACH et al., 1986). Quando há lesão vascular e a presença de íons cálcio, o FT liga-se ao FVII e ao FVIIa, formando complexo FVIIa-FT, que possui atividade enzimática (BACH; NEMERSON, 1981; RAO; RAPAPORT, 1988; SAKAI et al., *apud* GIANELLI, 1990). O complexo FT-FVIIa, também conhecido como complexo tenase extrínseco, dá início à via comum da coagulação, ativando o fator X (FX) para uma protease (FXa) pela clivagem de uma ligação peptídica (DAVIE et al., 1977). O complexo FVIIa-FT também é capaz de ativar o FVII circulante (auto-ativação), facilitando a formação do complexo tenase extrínseco (NEMERSON; REPKE, 1985; RAO; RAPAPORT, 1988; SAKAI et al., *apud* GIANELLI, 1990).

A via intrínseca inicia-se pelo contato do fator XII (FXII) e fator XI (FXI) com cargas elétricas negativas, como as do colágeno liberado pelo subendotélio ou as de endotoxinas produzidas por microrganismos, o que acarreta na ativação desses fatores (BOZZINI, 2004). O fator XII ativado (FXIIa) é capaz de ativar mais FXI, aumentando as concentrações plasmáticas de FXI ativado (FXIa). O FXIa atua enzimaticamente ativando o fator IX (FIXa), que, por sua vez, forma um complexo com o FVIIIa na superfície de fosfolípidios plaquetários e na presença de íons cálcio. O complexo FIXa-FVIIIa, também conhecido como complexo tenase intrínseco, ativa o FX (GUYTON; HALL, 2006).

O FXa, que foi ativado tanto pela via extrínseca quanto pela intrínseca, forma com o fator V ativado (FVa) o complexo protrombinase, que converte o FII (pró-trombina) em FIIa (trombina). O FIIa é uma proteína sérica, composta por duas cadeias polipeptídicas, que atua sobre o fibrinogênio, removendo quatro peptídeos de baixo peso molecular de cada molécula deste, o que permite que este forme um monômero de fibrina, que tem a capacidade de se polimerizar com outros monômeros, formando fibras instáveis de fibrina. A trombina também ativa o fator XIII (FXIIIa), que cria ligações covalentes entre os monômeros adjacentes da fibrina, aumentando a sua tensão superficial e estabilizando o coágulo. Uma vez que essas fibras aderem às superfícies dos vasos lesados, o coágulo se estabelece, impedindo a continuação da perda de sangue (GUYTON; HALL, 2006).

Apesar dos complexos tenase extrínseco e intrínseco serem capazes de levar à formação de trombina e, conseqüentemente, à produção de fibrina, sabe-se que,

fisiologicamente, a complexo tenase extrínseco (FVIIa-FT) é rapidamente inativado pelo inibidor da via do fator tecidual (TFPI). Dessa forma, o complexo FVIIa-FT só é capaz de gerar pequenas quantidades de trombina, o que é insuficiente para iniciar significativamente a formação de fibrina. Para que a formação do coágulo ocorra adequadamente, há necessidade de amplificação de formação de trombina, sendo o complexo tenase intrínseco, formado pelos fatores VIIIa e IXa, responsável por esse processo. Por isso, quando há deficiência de FVIII ou FIX, podem ocorrer processos hemorrágicos clinicamente significativos (DAVIE, 1977).

4.2.3 Hemostasia terciária ou fibrinólise

Atualmente, supõe-se que a coagulação e a fibrinólise são dois mecanismos que se desenvolvem concomitantemente, existindo um equilíbrio dinâmico e contínuo entre ambos. Dessa forma, admite-se teoricamente que há tendência hemorrágica quando ocorre um eventual desequilíbrio com predominância da fibrinólise e tendência trombogênica quando predomina a coagulação (TAKAHIRA, 2003).

A principal proteína plasmática envolvida na fibrinólise é o plasminogênio que, quando ativado, se transforma em uma proteína com função enzimática denominada plasmina. A plasmina atua localmente no interior do coágulo, digerindo fibras de fibrina, assim como outras proteínas pró-coagulantes, como fibrinogênio, FV, FVIII, protrombina e FXII (GONZÁLES; SILVA, 2008).

Quando o coágulo de fibrina é formado, grande quantidade de plasminogênio fica retida nele, junto com outras proteínas do plasma. O tecido lesionado libera inibidores da fibrinólise, como o inibidor da fibrinólise ativável pela trombina (TAFI) e o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1), o que impede que o plasminogênio retido no coágulo seja ativado. Quando o sangramento é interrompido e o tecido recupera-se da lesão, o endotélio vascular libera o ativador do plasminogênio tecidual (AP-t), que converte o plasminogênio em plasmina. A plasmina, por sua vez, digere a fibrina e o fibrinogênio, gerando os produtos de degradação de fibrina/fibrinogênio (PDF), removendo o coágulo sanguíneo e reestabelecendo o fluxo sanguíneo normal (GUYTON; HALL, 2006).

4.3 DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO

Se houver um equilíbrio entre todos os fatores envolvidos na homeostasia sanguínea, o sangue irá circular de maneira fluida, não extravasando (hemorragia) ou

coagulando (trombose) espontaneamente. Contudo, algumas deficiências ou anormalidades, genéticas ou adquiridas, podem afetar o equilíbrio do sistema hemostático, aumentando o risco de sangramento excessivo (BOZINNI, 2004). Em animais, é difícil detectar e controlar a trombose intravascular, já os distúrbios hemorrágicos são mais comumente diagnosticados e frequentes em animais domésticos (THRALL, et al. 2012).

Os distúrbios hemorrágicos podem ocorrer por disfunções ligadas tanto à hemostasia primária quanto à secundária. Dentre os distúrbios de hemostasia primária já relatados em mamíferos comuns, pode-se citar a doença de Von Willebrand (DvW), a síndrome de Chediak-Higashi e as anormalidades de receptor de adenosina difosfato (ADP) (SCHALM, 2010). Os distúrbios hemorrágicos da hemostasia secundária geralmente decorrem de defeitos quantitativos ou qualitativos dos fatores de coagulação e por isso recebem o nome de coagulopatias. Os mais importantes representantes dessa categoria de distúrbios são a deficiência de vitamina K, a deficiência de FVIII (Hemofilia A) e a deficiência de FIX (Hemofilia B) (BOUDREAUX, 2012).

4.4 HEMOFILIA A

4.4.1 Histórico

As primeiras descrições da hemofilia remontam aos papiros egípcios e ao antigo livro sagrado dos judeus, o Talmud, no século II a.C. Na Europa, o primeiro relato de hemofilia em humano foi realizado por Alejandro Benedicto, em 1525, na Itália. Após esse relato, múltiplos informes de casos de hemofilia começaram a ser descritos na Europa e, em 1796, houve a primeira referência à doença na América do Norte (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003; CASTILLO-GONZÁLES, 2012). Contudo, apenas em 1803, também na América do Norte, essa coagulopatia teve a sua primeira descrição científica. Nesse estudo, foram identificados pela primeira vez os aspectos básicos da enfermidade: tendência hereditária à hemorragia, que ocorre principalmente em homens, e que pode ser rastreada através da genealogia da família (OTTO, 1951).

No início do século 19, acreditava-se que as hemorragias em indivíduos hemofílicos eram decorrentes de anormalidades vasculares (GENTRY; JOHNSTONE, 1977). Contudo, em meados de 1830, notou-se que esses pacientes apresentavam defeitos de coagulação sanguínea e, no começo do século 20, estabeleceu-se que esses defeitos eram responsáveis pelos distúrbios hemorrágicos dos portadores de hemofilia. Dessa

forma, a partir de 1910, o prolongamento do tempo de coagulação foi adicionado ao conjunto de características determinantes para o diagnóstico da hemofilia (INGRAM, 1976). No decorrer das décadas seguintes, pesquisadores tentaram determinar qual era a causa do prolongamento da coagulação e, em 1937, Patek e Taylor constataram que o defeito estava relacionado com a deficiência de um constituinte plasmático que eles denominaram de “globulina anti-hemofílica” e que, posteriormente, em 1962, veio a ser chamado de FVIII. No ano de 1947, o argentino Alfredo Pavlovsky descobriu que a hemofilia era uma doença heterogênea, compreendendo os tipos A e B (INGRAM, 1976; RODRIGUES, 2005).

O primeiro relato de hemofilia em animais ocorreu também em 1947, quando um criador de cães notou um sangramento prolongado enquanto cortava as unhas de seu cão da raça Setter Irlandês. Curioso, o criador levou o animal para ser avaliado pelo patologista Kenneth M. Brinkhaus em Chapel Hill, na Carolina do Norte, que verificou que o cão era portador de deficiência de FVIII. A partir desse caso, estabeleceu-se uma colônia de cães hemofílicos na Universidade da Carolina do Norte e o primeiro modelo animal de hemofilia foi criado (LOZIER et al., 2013). Anos após esse primeiro relato, em 1980, um schnauzer miniatura de Toronto, Canadá, apresentou o mesmo fenótipo descrito em Chapel Hill e foi utilizado para estabelecer a segunda colônia de cães hemofílicos em *Queens University*. Ambas as colônias servem de referência para estudos em hemofilia (LOZIER et al., 2013), sendo publicados novos estudos sobre elas até o presente período.

4.4.2 Fisiopatologia

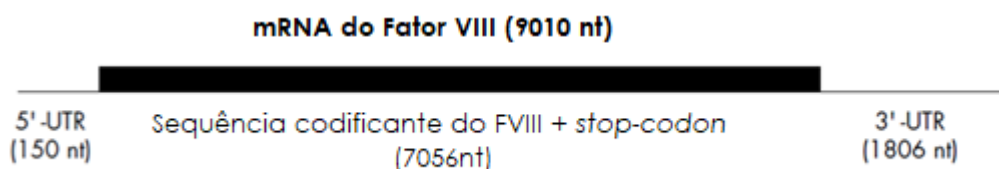
A hemofilia A canina compreende a deficiência de FVIII da coagulação sanguínea (GAVAZZA et al., 2013). A doença é decorrente de alterações nos genes codificantes do FVIII que se localizam no cromossomo X. Assim, sua ocorrência em cães machos é quase exclusiva (COLOMBO, 2013). O FVIIIa é uma peça chave da via intrínseca da coagulação, pois forma um complexo com o FIXa, aumentando a taxa de ativação do FX e, conseqüentemente, a produção de trombina (FIIa). Quando a deficiência de FVIII é severa, pouca trombina é produzida, e o coágulo não é formado adequadamente, o que propicia o sangramento excessivo (BARR; McMICHAEL, 2012).

Enquanto os aspectos clínicos e bioquímicos da hemofilia A são conhecidos há décadas, as bases moleculares da doença em humanos somente foram compreendidas em 1984, após a clonagem e caracterização do gene que codifica o FVIII (PIO, 2009).

Considera-se que existe grande homologia entre os genes do FVIII (F8) de humanos e de caninos, o que faz com que as mesmas bases moleculares definidas para humanos também sejam aplicadas em cães (CRISTOPHERSON et al., 2014; LOZIER et al., 2016).

Como já mencionado, a hemofilia A congênita é decorrente de alterações no gene codificante do FVIII, que se localizam na extremidade do braço longo do cromossomo X (Xq28). O gene é composto por 186.000 pares de bases (pb) distribuídos entre 26 éxons e 25 íntrons (COLOMBO, 2013; PIO, 2009). Todo gene é composto de regiões que participam da síntese proteica e que carregam informações que serão traduzidas pelos ribossomos, porém, há regiões da sequência codificadora que não são traduzidas, chamadas de UTRs (*untranslated regions*), e que ficam próximas das regiões 5' e 3', também conhecidas como região promotora e região terminal, respectivamente (WATSON, 2006). O transcrito de F8 tem aproximadamente 9.010 bases de comprimento. Ele possui uma região promotora curta (150 bases), uma janela de leitura aberta de 7.056 bases (Figura 2) e uma região 3' terminal longa, com 1.806 bases (PIO, 2009).

Figura 2 - A extensão e a localização da fase de leitura aberta no gene do FVIII.



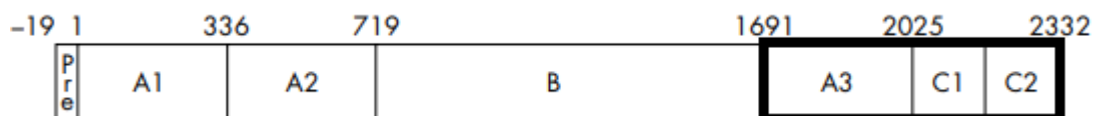
Nt - nucleotídeo; UTRs – região não traduzida. Adaptado de: BOWEN (2002).

O transcrito de F8 codifica um peptídeo de 2.332 aminoácidos que, após diversas modificações após a tradução, origina o FVIII propriamente dito, que circula como um heterodímero formado por uma cadeia pesada, constituída pelos domínios A1, A2 e fragmentos de B, e por uma cadeia leve, cujos domínios são A3, C1 e C2 (LOZIER et al., 2016).

Logo após sua produção e secreção, o FVIII interage com o FvW que atua como seu carreador e aumenta o seu tempo de meia vida no plasma de 6-8 horas para 12-15 horas. Os domínios A3, C1 e C2 da cadeia leve do FVIII são responsáveis por realizar a ligação deste ao FvW (Figura 3), portanto, mutações nesses domínios podem afetar a capacidade de ligação entre as duas proteínas, o que diminui a atividade funcional do FVIII no plasma por reduzir seu tempo de meia-vida e, conseqüentemente, sua

concentração plasmática (LOZIER et al., 2016; PIO, 2009). Como exemplo de casos desse tipo, temos os indivíduos que possuem mutações que impedem a sulfatação da tirosina 1.680 do domínio A3, que é crucial para a interação entre o FVIII e o FvW (BOWEN, 2002).

Figura 3 - Fator VIII com destaque para os domínios que permitem a sua interação com o fator de von Willebrand.



Adaptado de: BOWEN (2002).

Atualmente, mais de 2.300 mutações diferentes, incluindo rearranjo de gene, inserções, deleções, substituições de base, entre outras, já foram documentadas para o F8 em seres humanos. Em cães, o número de mutações conhecidas é muito menor, porém, já foram documentadas inversões, mutações pontuais que resultam em um *stop-codon* prematuro e inserção de transposons, porém a informação sobre a base genética da hemofilia A canina é mais limitada (CRISTOPHERSON et al., 2014; HOUGH et al., 2002; LOZIER et al., 2002; LOZIER et al., 2016).

Estudos que analisaram o DNA complementar (cDNA) de FVIII verificaram que os cães das colônias de Chapel Hill (Carolina do Norte, EUA) e da Queen's University (Ontário, Canadá) apresentam uma inversão do íntron 22, semelhante ao que ocorre em 40% dos hemofílicos A humanos. A inversão causa um rompimento do F8, que resulta em dois transcritos de mRNA que produzem proteínas aberrantes (HOUGH et al., 2002; LOZIER et al., 2002).

Em um estudo de caso conduzido por Lozier et al. (2016), foi relatado uma mutação pontual no F8 que compreendia a troca de uma citosina (C) por uma guanina (G) na posição 1.786, o que alterou o códon (CGA→TGA) que codificava o resíduo de aminoácido arginina 577 no éxon 12 para um *stop-codon* prematuro. Tal mutação não havia ainda sido caracterizada para hemofilia A em cães, entretanto é semelhante a encontrada no mesmo éxon (12) em humanos, na qual o resíduo arginina 602 é substituído por um *stop-codon* (LOZIER et al., 2016). Em outro estudo semelhante, Mischke et al. (2011) identificaram uma mutação no éxon 1 em que uma troca de uma única base na posição de nucleotídeo 98 (TGG→TAG) resulta em um *stop-codon* prematuro. Além das

já mencionadas, há outros tipos de mutações estruturais que afetam sítios de ligação e secreção do FVIII (THRALL et al., 2015)

A maioria dos casos de hemofilia canina A são hereditários, mas há uma pequena porcentagem de casos em que a hemofilia A é adquirida (THRALL et al. 2015). A hemofilia A adquirida é causada pelo desenvolvimento de autoanticorpos contra o FVIII do próprio animal, o que acarreta em uma deficiência de fator. A hemofilia A adquirida é bastante rara e, por ter uma fisiopatologia, apresentação clínica, diagnóstico e tratamento diferentes das formas hereditárias, não será parte do escopo do presente trabalho (SCHALM, 2010).

4.4.3 Prevalência

Como anteriormente mencionado, devido à localização do F8 no cromossomo X, a ocorrência da hemofilia A é quase que exclusiva em machos (COLOMBO, 2013). A hemofilia A já foi reportada em cavalos, gatos de raças mistas, gado do tipo *Australian Hereford* e ovelhas belgas (CATALFAMO, 1988). Em cães, a hemofilia A já foi descrita em quase todo tipo de raça pura, sendo mais frequente em raças de médio e grande porte, como Akita, Cocker spaniel, Sharpei, Poodle, entre outras (DUNCAN, 1982). Apesar de amplamente disseminada, a propagação mundial deve-se aos Pastores Alemães, cuja incidência pode ser traçada por muitas e muitas gerações até um único macho originador, fazendo deles a raça mais comumente, porém não mais gravemente, afetada pela doença (HELN, 1986). Na Tabela 1, encontra-se um resumo dos casos de hemofilia A canina reportados entre 1990 e 1996, segundo Brooks (1999). Relatos anteriores a esse intervalo de tempo compreendiam quase que totalmente casos em cães pastores (BROOKS, 1999), entretanto, Gentry e Johnstone relataram em 1977 um caso de hemofilia A em um Poodle comum, descrevendo resultados de testes laboratoriais e acompanhando o cão durante quatro dias de tratamento.

Tabela 1 - Resumo dos casos reportados de hemofilia A canina (1990 - 1996).

Raça	Gravidade da deficiência de FVIII¹	Padrão de incidência²
Basset hound	Moderada	Esporádica
Beagle	Severa	Familiar
Boxer	Severa	Familiar
Chihuahua	Moderada	Esporádica
Chow Chow	Severa	Esporádica
Pastor Alemão	Moderada e fraca	Familiar
Golden Retriever	Fraca	Familiar
Husky	Moderada	Familiar
Lhasa apso	Severa	Familiar
Corgi	Severa	Esporádica
Rottweiler	Moderada	Familiar
Yorkshire	Severa	Esporádica
Cães SRD	Severa, moderada e fraca	Esporádica

SRD – sem raça definida; 1- Deficiência de FVIII: Severa = atividade coagulante do fator < 1%; Moderada = atividade coagulante do fator 1 - 10%; Fraca = atividade coagulante do fator > 10%; 2- Padrão de incidência: Esporádico = só um indivíduo ou só uma ninhada; Familiar = casos em mais de uma geração ou novos casos e mais de três anos seguidos. Adaptado de: BROOKS (1999).

Apesar de ser mais comumente hereditária, a hemofilia A pode acontecer devido a mutações esporádicas, ou seja, sem história familiar (PIO, 2009). Para humanos, esse tipo de hemofilia compreende cerca de 30% dos casos diagnosticados, no qual o tipo predominante de mutação é a pontual (LU, 2017). Para cães, não há dados exatos, pois existem poucos estudos que investigaram o espectro de mutação do F8 canino, e as proporções das diferentes mutações não foram investigadas em um coletivo bem definido (BECKER, 1996).

4.4.4 Diagnóstico

A clínica do cão hemofílico A é inespecífica e o diagnóstico definitivo é dado com base em achados laboratoriais. Contudo, há sinais e sintomas característicos que devem ser levados em consideração para que haja suspeita do distúrbio da coagulação e justificativa para a solicitação de exames laboratoriais (COLOMBO, 2010).

Adicionalmente, ao realizar a avaliação clínica e laboratorial do animal, é importante considerar que os animais de pequeno porte têm maior incidência da forma severa do distúrbio, e que o padrão de herança do gene pode influenciar na severidade da coagulopatia, apesar de se saber que o tipo de padrão de herança, familiar ou esporádica, não é definitivo para determinar se a deficiência de FVIII será severa ou moderada (DODDS, 2005).

4.4.4.1 Aspectos clínicos

Ao realizar a avaliação clínica de um cão com suspeita de distúrbio hemorrágico, um dos maiores desafios é diferenciar os casos suspeitos de alterações da hemostasia primária dos casos de defeitos da hemostasia secundária (TAKAHIRA, 2003).

A hemofilia A congênita se expressa clinicamente no início da vida do animal, e os sinais mais comuns incluem claudicação intermitente, hematomas subcutâneos e sangramento excessivo associado com trauma, com procedimentos cirúrgicos, com venopunção ou com a perda da primeira dentição (JOHNSTONE, 2002). O achado clínico mais pronunciado da hemofilia A é a hemartrose, que consiste no extravasamento de sangue para o interior da articulação ou cavidade sinovial (Figura 4). A inflamação da membrana sinovial tem um papel importante na patogênese do dano articular causado por sangramento, pois são essas mudanças no tecido sinovial que induzem as alterações na cartilagem articular (ROSENDAAL et al., 1999). As lesões geralmente começam nas regiões que suportam mais peso, como nas patas traseiras (GAVAZZA et al., 2014).

Figura 4 - Inchaço na pata traseira de pastor belga devido à hemartrose.



Fonte: SCHALM (2010).

Ao realizar o exame físico, deve-se procurar sítios de hemorragia focal ou multifocal. Para tanto, inspeciona-se membranas mucosas e pele sem pelos procurando sinais de equimose (Figura 5) e hematoma (Figura 6) (SCHALM, 2010). As equimoses decorrem do rompimento de vasos de pequeno calibre do tecido subcutâneo, o que causa

o aparecimento de manchas na pele de cor violácea e diâmetro maior do que um centímetro (THRALL, et al., 2015). Os hematomas, por sua vez, são o acúmulo de sangue em um órgão ou tecido ocasionado pelo rompimento de vasos sanguíneos de maior calibre, formando uma “bolsa” de cor castanho-arroxeadada (DALMOLIN, 2013).

Figura 5 - Equimose subcutânea em Pastor Alemão.



Fonte: ECLINPATH (2013).

Figura 6 - Hematoma abdominal em cão da raça Daschound



Fonte: DALMOLIN (2014).

No momento do exame físico, é importante não confundir a equimose e o hematoma com as petéquias (Figura 7) e a púrpura, que são tipicamente encontradas em distúrbios da hemostasia primária, como DvW, e causadas por pequenas hemorragias de vasos sanguíneos (SCHALM, 2010). A petéquia e a púrpura são menores que a equimose, apresentando diâmetro inferior a 3 mm, e entre 3 mm e 1 cm, respectivamente (TAKAHIRA, 2003).

Figura 7 - Petéquias abdominais em um cão sem raça definida.



Fonte: MIL GATOS (2015).

Adicionalmente, quando há suspeita de coagulopatia severa, deve-se procurar por sinais de hemorragia persistente e recorrente em sítios específicos, não excluindo a possibilidade de haver doenças ou distúrbios subjacentes que causem hemorragias secundárias, tais como doenças hepáticas ou hemangiossarcoma (THRALL et al., 2015).

Além dos sinais clínicos, o histórico do paciente também pode auxiliar a diferenciar os distúrbios da hemostasia secundária dos da primária. Nesse sentido, alguns dos questionamentos que podem ser feitos ao dono do animal estão apresentados no Quadro 1 (THRALL et al., 2015).

Quadro 1 - Anamnese feita com o cuidador do animal para estreitamento do diagnóstico clínico.

1. Houveram grandes hemorragias no tecido subcutâneo no passado?
2. Houveram hemorragias, petequiais ou equimóticas no passado?
3. Qual tem sido a cor da urina do animal?
4. O animal apresenta claudicação periódica, sugerindo hemorragia intra-articular?
5. Quais são as cores e características das fezes do animal?
6. O animal sangrou excessivamente durante alguma cirurgia?
7. O animal recebeu qualquer medicamento e, em caso afirmativo, quando?
8. Qual é o ambiente do animal?
9. Quando a hemorragia ocorreu em relação a outros sintomas?

Adaptado: THRALL et al. (2012).

4.4.4.2 Diagnóstico Laboratorial

Clinicamente, a hemofilia A é muito frequentemente confundida com a hemofilia B e, principalmente, com a DvW, uma vez que nessa coagulopatia pode haver diminuição na concentração de FVIII circulante devido a diminuição da concentração de FvW (THRALL et al., 2012). Portanto, para realizar o diagnóstico diferencial dessas três doenças, são necessários testes laboratoriais que avaliam a hemostasia e suas diferentes fases (JOHNSTONE, 2002).

A investigação laboratorial de distúrbios hemorrágicos em caninos inicia-se com a realização do hemograma, seguido de testes que avaliam a hemostasia primária e secundária e, por fim, por testes de confirmação que envolvem a dosagem específica de fatores (DALMOLIN, 2014). Na Tabela 2 estão resumidos os testes de triagem em hemostasia que são realizados para cada coagulopatia e quais dos exames se encontram alterados (SCHALM, 2010).

Tabela 2 - Resultados laboratoriais de testes de triagem segundo o tipo de deficiência de fator.

Deficiência de fator	Testes alterados	Testes sem alteração	Propensão ao sangramento
Fibrinogênio	TT	TTPa, TP, TAC	Variável (severa ou moderada). Espontâneo ou pós-trauma
Fator II	TTPa, TP	TT	Pós-trauma
Fator VII	TP	TTPa, TAC, TT	Variável e pós-trauma
Fator VIII	TTPa	TP, TT	Espontâneo ou pós-trauma
Fator IX	TTPa	TP, TT	Espontâneo ou pós-trauma
Fator X	TTPa, TP	TT	Espontâneo ou pós-trauma
Fator XII	TTPa	TP, TT	Moderada pós-trauma
DvW tipo 1	TSBM	TTPa, TT, TP, TAC	Variável. Espontânea ou pós-trauma
DvW tipo 2	TSBM	TTPa, TT, TP, TAC	Severa. Espontânea ou pós-trauma
DvW tipo 3	TSBM	TTPa, TT, TP, TAC	Severa. Espontânea ou pós-trauma

DvW – Doença de von Willebrand; TT - tempo de trombina; TTPa - tempo de tromboplastina parcial ativada; TP - tempo de protrombina; TAC - tempo de coagulação ativada TSBM: Tempo de Sangramento da Mucosa Bucal. Adaptado de: SCHALM (2010).

Independentemente de qual exame será realizado, para que hajam resultados confiáveis, é muito importante uma coleta de amostra adequada, bem como um adequado armazenamento e transporte (THRALL et al., 2015). Uma coleta adequada consiste em realizar uma venopunção “limpa”, evitando contaminação tecidual e ativação plaquetária. Assim, após a coleta, a amostra deve ser transferida rapidamente e gentilmente para um tubo contendo o anticoagulante apropriado para o ensaio que será realizado (WEISER, 2007).

Ao iniciar uma investigação laboratorial em um paciente canino, deve-se priorizar a confecção da extensão sanguínea e a execução do hemograma, realizando-se a contagem total de eritrócitos, plaquetas e leucócitos, bem como a dosagem de hemoglobina e o hematócrito (DALMOLIN, 2014). Em cães hemofílicos, os resultados do hemograma dependem muito da severidade da coagulopatia e se o paciente apresenta sangramento ativo ou não, dessa forma, não existe um padrão de alterações no

hemograma, o que limita a utilização desse exame para confirmar o diagnóstico de hemofilia. Contudo, o hemograma auxilia o veterinário a determinar o estado geral do paciente (WINFIELD, 2014). Como exemplo, na Tabela 3 foram apresentados os resultados do hemograma de um Poodle de seis meses de idade acometido de hemofilia tipo A que no momento do exame apresentava mucosas extremamente pálidas e um grande hematoma submandibular (GENTRY, 1977).

Tabela 3 - Resultados do hemograma de um Poodle comum de 6 meses com hemofilia A e valores de referência para cães de 6 a 12 meses.

Parâmetros	Poodle com hemofilia A	Valores de referência
Hemácias (milhões/mm³)	2,58	6,00 a 7,00
Hemoglobina (g/dL)	4,9	14,0 a 17,0
Hematócrito (%)	15,7	40,0 a 47,0
Leucócitos (mil/mm³)	50,5	8,0 a 18,0
Plaquetas (/mm³)	170.000	200.000 a 500.000

Adaptado de: GENTRY (1977); R&K DIAGNÓSTICO (2017).

Além do hemograma, outro importante teste de triagem que deve ser realizado em pacientes que apresentam hemorragia de causa desconhecida é o tempo de sangramento da mucosa bucal (TSMB). O TSMB é uma prova de função plaquetária e, para sua realização, faz-se uma pequena incisão (aproximadamente 0,5 cm) na parte de dentro do lábio superior do paciente, uma gaze é posicionada logo abaixo do corte e determina-se quanto tempo leva para parar o sangramento (Figura 8), sendo que o tempo normal varia de 1,7 a 4,2 minutos (HARKER, 1997). O TSMB é prolongado em pacientes com disfunção plaquetária ou com DvW severa. Dessa forma, esse exame auxilia no diagnóstico diferencial da hemofilia e da DvW, pois, usualmente, o TSMB está normal até mesmo em cães com severa deficiência de FVIII ou FIX (FORSYTHE, 1989). Um cuidado que se deve tomar ao avaliar o resultado desse tipo de exame é que o TSMB encontra-se diminuído em pacientes gravemente plaquetopênicos, independentemente do estado funcional das plaquetas do paciente, dessa forma, ele só tem valor diagnóstico quando o número de plaquetas estiver acima de 75.000 plaquetas/mm³ (JERGENS et al., 1987). Adicionalmente, ressalta-se que o TSMB é um exame inespecífico, que apenas indica a existência de alterações de hemostasia primária, contudo, esse ensaio não é capaz de indicar qual é tipo de distúrbio que existe (ECLINPATH, 2018).

Figura 8 - Teste de tempo de sangramento de mucosa bucal (TSMB).



Fonte: Cornell University of Veterinary Medicine (2014).

Outro teste de triagem rotineiramente realizado em cães com hemorragia não explicada é o tempo de coagulação (TC). O TC mede o tempo que leva para que haja a formação de coágulo em uma amostra de sangue total. Dessa forma, ele avalia a cascata de coagulação e resultados prolongados sugerem a presença de alterações de hemostasia secundária. A determinação do TC pode ser realizada de forma manual, ou utilizando-se coagulômetro semiautomático ou automático (SCHALM, 2010). No método manual, coleta-se a amostra de sangue em um tubo de vidro seco e verifica-se em que momento há formação de coágulo, podendo-se, para tanto, utilizar o método da inclinação do tubo (Figura 9, Painel A) ou o do “gancho” manual (Figura 9, Painel B). Nos métodos semi ou automáticos, a coleta de sangue é feita da mesma forma, mas a detecção do coágulo é realizada pelo equipamento (KOLDE, 2004).

Figura 9 - Métodos manuais para identificação de coágulo.



Painel A: Método da inclinação do tubo; Painel B: Método do gancho manual. Adaptado de: SCHALM, 2010.

A introdução de métodos semi ou totalmente automatizados para detecção do coágulo melhorou a precisão e reduziu a variabilidade intra-operador dos resultados de TC. Os coagulômetros podem empregar diferentes métodos físicos de detecção de coágulo como, por exemplo, o do “gancho mecânico”, em que se empregam dois eletrodos que formam um circuito fechado quando imersos no sangue, de tempos em tempos um dos ganchos é levantado e, se há formação de coágulo de fibrina, este mantém a condutividade mesmo quando o gancho encontra-se fora da amostra (SCHALM, 2010). Outro método é o da bola de aço, que mantém o movimento oscilante pela condutividade de um ímã; se o coágulo se formar, a bola para de oscilar e o tempo transcorrido é registrado (KOLDE, 2004).

Portanto, o TSMB e o TC são exames inespecíficos e de baixa sensibilidade. Dessa forma, os seus resultados devem ser confirmados por ensaios mais confiáveis, como o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), o tempo de protrombina (TP), o tempo de coagulação ativada (TAC) e o tempo de trombina (TT) (GAVAZZA, 2014). Assim como o TC, esses ensaios consistem em determinar de forma manual, semi ou totalmente automatizada o tempo que leva para formar o coágulo após a adição de um agente iniciador da cascata de coagulação. Importante ressaltar que, em diagnósticos veterinários, assume-se que há homologia estrutural o suficiente entre as proteínas de coagulação humanas e caninas, de forma que reagentes e conjuntos diagnósticos desenvolvidos para humanos podem ser utilizados com amostra de caninos (SCHALM, 2010; THRALL et al., 2012). Em relação à amostra utilizada, com exceção do TAC, o sangue utilizado para a realização desses testes deve ser coletado em um tubo com 3,2% de citrato de sódio, numa proporção anticoagulante:sangue de 1:9. Após a coleta, as amostras são centrifugadas para a obtenção do plasma pobre em plaquetas (PPP). Para o TAC, utiliza-se sangue total não anticoagulado (THRALL et al., 2012).

O TP é um teste amplamente usado para avaliar a função da via extrínseca e comum da cascata da coagulação, sendo bastante sensível a reduções das concentrações de FVII, FX e FV, e menos sensível a diminuições de FII e fibrinogênio (LUBAS, 2011). O TP consiste em determinar o tempo de formação do coágulo após a adição de tromboplastina tecidual e cálcio ao PPP (SCHALM, 2010). Comercialmente, existem três tipos de reagentes de tromboplastina: recombinante, tecidual (que pode ser extraída de cérebro de coelho, ou de placenta humana), e combinada (tromboplastina tecidual diluída em uma fração de fibrinogênio, geralmente adsorvida em plasma bovino) (MILETICH, 1995). Tais reagentes podem divergir em sensibilidade para a deficiência de fator,

consistência do reagente, valores absolutos de tempo para formação do coágulo, entre outros, o que torna necessário que os laboratórios determinem os seus próprios valores de referência utilizando plasmas controle comerciais ou um *pool* de PPPs obtidos de pacientes normais (SCHALM, 2010). De forma geral, em cães, os valores normais de TP variam entre 6 e 16 segundos. Esse baixo valor de normalidade (<10 s) pode dificultar a percepção da formação do coágulo e diminuir a sensibilidade do teste, principalmente em equipamentos foto-ópticos, dessa forma, alguns laboratórios diluem o reagente de TP para fornecer tempos maiores e aperfeiçoar a sensibilidade do teste (THRALL et al., 2012). Como pode ser observado, os resultados de TP são reportados em segundos e o grau de prolongamento é inversamente proporcional às concentrações dos fatores no plasma (THRALL et al., 2012). Por avaliar a via extrínseca, a deficiência de FVIII não afeta os resultados de TP, portanto, estes se encontram normais em cães com hemofilia A (SCHALM, 2010).

O TAC é um teste de rápida realização, frequentemente usado como um teste “*point-of-care*” em clínicas veterinárias, pois não é necessário que seja realizado em ambiente laboratorial (GLAUS et al., 1996). Nesse ensaio, o sangue total é transferido, imediatamente após a coleta, para um tubo que contenha um ativador da via intrínseca da coagulação (GLAUS et al., 1996), sendo que os ativadores de escolha são substâncias não fisiológicas, como sílica, partículas de vidro e terra diatomácea (SCHALM, 2010). A grande variabilidade de reagentes utilizados, bem como das técnicas empregadas, faz com que seja recomendável que cada laboratório determine seus próprios valores de referência, mas na literatura são reportados valores de normalidade que vão de 79 a 186 segundos. Por avaliar a via intrínseca, um prolongamento do resultado indica que existe deficiência de fatores dessa via, o que ocorre em portadores de hemofilia A (THRALL et al., 2012; TSENG et al., 2001). O TCA é pouco preciso, pois é influenciado por inúmeras variáveis, incluindo contagem de plaquetas, presença de comorbidades (por exemplo, lúpus e síndrome do anticorpo antifosfolípideo), anticoagulantes, temperatura do ambiente e hemodiluição (GLAUS, 1996). Dessa forma, ele é considerado um teste de triagem e o resultado alterado deve ser sempre confirmado pela avaliação do TTPa (TSENG et al., 2001).

O TTPa é um teste funcional que serve para triar alterações da via intrínseca e comum da coagulação (SCHALM, 2010). O nome “tromboplastina parcial” significa que o reagente contém fosfolípideos, mas não possui fator tecidual, dessa forma, ele ativa apenas a via intrínseca da coagulação; já o termo “ativada” significa que o reagente

contém substâncias que podem acelerar a reação de coagulação e diminuir o tempo para produzir o coágulo de fibrina (MILETICH, 1995; NCCLS, 1996). Para a realização do TTPa, adiciona-se ativador de FXII, fosfolípido e cálcio ao PPP, formando uma suspensão, e determina-se o tempo transcorrido entre a adição dos reagentes e a formação do coágulo (SCHALM, 2010). Como pode ser observado, o TTPa diverge do TAC por necessitar de adição de fosfolípidos e cálcio, uma vez que o ensaio é realizado em PPP citratado e não sangue total (TSENG et al., 2001). Os reagentes para esse teste são ainda mais diversos e não-padronizados do que os reagentes utilizados para o TP (THRALL et al., 2012; VAN COTT, 2001). Os ativadores comumente usados podem ser ácido elágico, sílica micronizada ou celite (SCHALM, 2010), enquanto os fosfolípidos (substitutos para plaquetas e aceleradores das reações) são, usualmente, misturas de diferentes tipos fosfolípidos obtidos de diferentes fontes animais (NCCLS, 1996).

No diagnóstico de caninos, os valores normais de TTPa podem variar de 10 a 20 segundos (KARGES, 1994). No entanto, os valores de referência deste ensaio são altamente dependentes dos reagentes e instrumentos utilizados, e há uma grande importância da fase pré-analítica nesse teste, sendo recomendado que cada laboratório determine sua própria faixa de referência a cada novo lote de reagente (VAN COTT, 2001). Semelhantemente ao TAC, prolongamentos dos resultados de TTPa podem ser causados por redução da concentração de fatores da via intrínseca ou da via comum (SCHALM, 2010). A lista de distúrbios que pode causar esse tipo de alteração inclui: falha hepática, intoxicação por rodenticida antagonista de vitamina K, concentrações aumentadas de globulinas (mieloma múltiplo canino ou leishmaniose) e deficiência congênita ou adquirida de fatores específicos da via intrínseca, como, por exemplo, hemofilia A e B (MISCHKE, 2000). Ressalta-se que os reagentes utilizados no TTPa têm sensibilidade variável, especialmente para deficiências de FVIII, mas diminuições clinicamente significantes, com atividade de FVIII abaixo de 30%, geralmente são identificadas, fazendo com que mesmo hemofílicos leves (<20% de FVIII) sejam reconhecidos (MISCHKE, 2000). Além disso, portadores de DvW podem ter reduções nas concentrações de FVIII, contudo, como geralmente essas diminuições são muito pequenas, frequentemente o TTPa desses cães não encontra-se alterado, o que auxilia a diferenciar os casos de DvW dos de hemofilia (SCHALM, 2010). Tempos menores que os normais nos resultados de TTPa podem estar relacionados à presença de fatores de coagulação previamente ativados (MORENO, 1999).

Além dos testes acima mencionados, também podem ser realizados testes para avaliar o fim da via comum da coagulação, ou seja, a conversão de fibrinogênio em fibrina (COLOMBO, 2013). Um exemplo destes é o TT, que é feito adicionando-se uma quantidade relativamente baixa de trombina ao PPP citratado (SCHALM, 2010). Os valores de referência de TT são muito variáveis, uma vez que sofrem interferências relacionadas à procedência dos reagentes e a metodologia utilizada. Portanto, recomenda-se que cada laboratório determine suas próprias faixas de normalidade, que podem estar entre 6 e 16 segundos para cães (THRALL et al., 2012). O resultado de TT é inversamente proporcional à concentração plasmática de fibrinogênio, e o seu prolongamento pode ser causado por desfibrinogenemia, presença de heparina ou substâncias semelhantes a ela, não se alterando, portanto, em cães portadores de hemofilia A (GALANAKIS, 1995).

Como pode ser visto, após a realização dos exames de triagem (TSBM, TC, TAC, TP, TTPa e TT), é possível distinguir os cães portadores de hemofilia dos de DvW, entretanto, esses testes não possibilitam diferenciar os hemofílicos A dos B. Por isso, após a triagem, é necessário caracterizar a deficiência específica de FVIII. Laboratorialmente, o FVIII circulante pode ser determinado de acordo com seus níveis residuais (fator VIII antígeno - FVIII:Ag) ou por sua atividade funcional como cofator (fator VIII coagulante - FVIII:C) (GOODEVE, 2003; THRALL et al., 2012).

Atualmente, há dois métodos disponíveis para dosagem da atividade funcional de FVIII:C (atividade coagulante de FVIII). O primeiro é o método coagulométrico ou de um estágio, em que se utiliza como reagente plasma deficiente em FVIII, cujo principal critério de qualidade é ter uma quantidade indetectável de FVIII e alta atividade de todos os outros fatores da coagulação. Nesse método, avalia-se a habilidade da amostra do paciente de corrigir o tempo de formação do coágulo em um meio em que se adiciona plasma deficiente em FVIII, reagentes para TTPa e cálcio. Devido a todos os fatores estarem em excesso em relação ao FVIII, o tempo de coagulação desta mistura é principalmente afetado pela atividade de FVIII. Dessa forma, nesses ensaios, o tempo que leva para formar o coágulo de fibrina reflete a concentração de FVIII presente na amostra do paciente (HULTIN, 1995; SCHALM, 2010). Muitas variáveis podem influenciar a determinação de FVIII:C pelo método coagulométrico e contribuir para um indesejável alto coeficiente de variação e um desacordo na exatidão do teste. Dessa forma, o segundo método existente, o método cromogênico ou de dois estágios, é o mais recomendado para o diagnóstico da hemofilia A, uma vez que apresenta melhor reprodutibilidade quanto aos limites inferiores da curva e não depende de substrato deficiente de fator, eliminando,

assim, possíveis interferências de FVIII residual; além disso, o teste não é influenciado pela presença de anticoagulante lúpico ou pela procedência dos reagentes de TTPa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No método cromogênico, determina-se a quantidade de FXa gerada pela ação do FVIII que é ativado pela adição de fosfolipídeos e cálcio à amostra. O FXa atua sobre o substrato cromogênico de FXa, gerando uma cor que é diretamente proporcional à quantidade de FXa produzido que é, por sua vez, diretamente proporcional a concentração de FVIII:C na amostra (BOYLAN; MILLER, 2018).

Tratando-se da hemofilia A humana, pelo menos 17 mutações diferentes para o gene do FVIII foram associadas à discrepância entre os resultados obtidos pelos dois métodos, mostrando atividades inferiores pelo método cromogênico. Tais informações não foram documentadas para cães, mas acredita-se que os resultados sejam semelhantes (GOODEVE, 2003). Além das mutações, inúmeros fatores metodológicos podem levar a divergências sistemáticas entre os métodos, mas estas podem ser ultrapassadas por cuidadosa padronização e pelo uso de calibradores apropriados (BARROWCLIFFE, 2002).

Os resultados de FVIII:C podem ser expressos em porcentagem de atividade ou, quando se utiliza padrões comerciais com concentração conhecida de FVIII, em UI/dL (PIO, 2009). A partir da determinação de FVIII:C, é possível, não só confirmar o diagnóstico de hemofilia A, como também classificar a gravidade da doença (Tabela 4) e obter um prognóstico que irá orientar o acompanhamento e tratamento do paciente (GOODEVE, 2003; STOKOL, 1998).

Tabela 4 - Classificação da gravidade da hemofilia A baseada no resultado de fator VIII coagulante (FVIII:C).

FVIII:C	SEVERIDADE
< 2%	Severa
2-5%	Moderada
6-20%	Leve

Fonte: ECLIPATH (2018).

As concentrações residuais de FVIII (FVIII:Ag) também podem ser determinadas por imunoenaios, que podem ser de aglutinação, turbidimétricos ou enzimáticos, sendo o mais amplamente usado entre esses o ELISA (*Enzyme-linked immunoabsorbent assay*) (LIN et al., 2004; BOYLAN; MILLER, 2018). O imunoenasão

é realizado com anticorpos específicos para o FVIII, e monta-se uma curva padrão sob as recomendações de concentração estabelecida pelo Padrão Internacional para Fator VIII e Fator de von Willebrand no Plasma, elaborada pela Organização Mundial da Saúde (LIN et al., 2004). No entanto, as concentrações de FVIII residuais (FVIII:Ag) não são utilizadas para fins de classificação ou diagnóstico devido a sua alta taxa de interferentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Por utilizarem anticorpos monoclonais, nem todos reagentes desenvolvidos para humanos podem ser utilizados no diagnóstico de animais, mas alguns conjuntos diagnóstico podem ser validados para uso em cães (THRALL et al., 2012).

4.4.5 Tratamento de hemofilia A

Durante muitos anos, não existiu tratamento adequado para a hemofilia, seja em humanos ou em cães. Os tratamentos mais antigos incluíam peróxido de hidrogênio, gelatina e, até mesmo, veneno de cobra. O primeiro tratamento efetivo foi descoberto por acaso em 1840, quando um médico inglês que estudava a doença transfundiu sangue de um indivíduo saudável para um paciente hemofílico e percebeu que o sangramento do paciente cessou quase que instantaneamente (RODRIGUES, 2005).

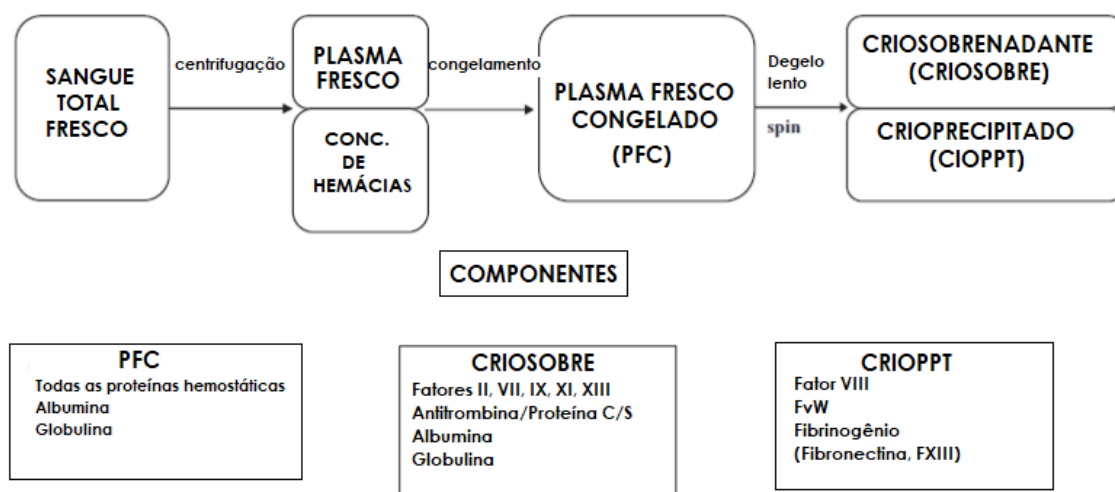
A partir de 1957, as transfusões sanguíneas foram substituídas pelas infusões de concentrados de FVIII, obtidos a partir de crioprecipitação de plasma de doadores saudáveis (AUSTEN et al., 1982). Contudo, o sucesso alcançado com a terapia de reposição com concentrado de FVIII nos paciente hemofílicos sofreu um importante retrocesso no início da década de 80, devido à contaminação viral deste hemocomponente (RODRIGUES, 2005). Para o tratamento de humanos, na década de 90, foram desenvolvidos os primeiros FVIII recombinantes sintéticos de alta pureza, que representavam menor risco de contaminação e de resposta imunogênica do que os concentrados obtidos a partir de sangue humano (COLOMBO; ZANUSSO, 2013). Em cães, os concentrados comerciais de FVIII humano ou suíno são hemostaticamente efetivos, no entanto, a administração dessas proteínas análogas induzem a formação de anticorpos e há grande risco de anafilaxia após a infusão.

Em 2009, foi produzido um FVIII recombinante canino que em estudos de curto prazo mostrou capacidade de corrigir o fenótipo da doença com um perfil farmacocinético semelhante à experiência clínica com o FVIII recombinante humano. Notavelmente, desafios de tolerância imunológica com esse fator recombinante em cães jovens e adultos com hemofilia A não induziram a formação de anticorpos neutralizantes ou não

neutralizantes, diferentemente do que ocorre em seres humanos (SABATINO et al., 2009). A metodologia de produção de FVIII recombinante apresenta baixo rendimento e elevado custo, o que torna essa forma de tratamento muito dispendiosa para o proprietário do animal. Adicionalmente, a necessidade de injeções repetitivas devido a curta meia-vida do fator (12 h) diminui a sua conveniência, uma vez que pode afetar o psicológico do cão, pois este não entende a necessidade das aplicações (SCHALM, 2010). Dessa forma, o crioprecipitado ainda é a melhor alternativa para tratamento de cães hemofílicos A. Salienta-se ainda que, devido às novas técnicas de inativação viral e purificação, esse hemocomponente é considerado relativamente seguro, quando comparado aos produzidos na década de 80 (DALMOLIN, 2010; SCHALM, 2010).

O tratamento de cães hemofílicos A consiste em suplementar o paciente com o fator deficiente, de forma que a atividade de FVIII:C mantenha-se acima de 25-30% do normal. Para tanto, realiza-se, principalmente, a transfusão de sangue total (ST) ou de componentes do plasma (DALMOLIN, 2010; THRALL et al, 2012). O termo “componente do plasma” é designado para produtos preparados por fracionamento, centrifugando a bolsa de ST para separar os elementos celulares do plasma sobrenadante. Os componentes do plasma que podem ser utilizados no tratamento da hemofilia A são o plasma fresco congelado (PFC) e o crioprecipitado (Figura 10). O crioprecipitado é obtido a partir do descongelamento lento em baixa temperatura (1-6 °C) do PFC. O crioprecipitado é rico em fibrinogênio, FXIII, fibronectina e o complexo FvW-FVIII, e sua maior vantagem é a redução significativa de volume transfusional, pois garante aproximadamente 50% da atividade presente no PFC, mas com um décimo do volume total. Dessa forma, apesar de qualquer um dos hemocomponentes acima citados poderem ser utilizados no tratamento de cães hemofílicos, a infusão de crioprecipitado é a terapia mais indicada (SCHALM, 2010; STOKOL, 1998).

Figura 10 - Fluxograma do processamento dos componentes do plasma.



Conc. – concentrado. Adaptado de: SCHALM (2010).

Para cães, a coleta da bolsa de ST pode ser realizada utilizando-se bolsas para coleta de sangue humano, podendo ser retirados de 13 a 17 mL de sangue/kg de peso corporal em intervalos de 3 a 4 semanas (ECLINPATH, 2018). A veia jugular é o único local recomendado para se realizar a punção do sangue para doação, e a bolsa é oscilada gentilmente por um assistente durante a coleta, para que a gravidade e a pressão sanguínea do doador sejam o suficiente para levar o sangue até a bolsa. Durante a coleta, o bem-estar do paciente é constantemente monitorado, sendo as cores das mucosas, os batimentos cardíacos e a taxa respiratória frequentemente avaliados, uma vez que o doador apresente qualquer comprometimento, a doação é descontinuada (SCHALM, 2010).

A medicina transfusional veterinária teve início apenas nos anos 50, com o surgimento de equipamentos apropriados. Nos últimos anos, houve um crescimento do interesse pela área, o que impulsionou a pesquisa e o desenvolvimento de bancos de sangue especializados. O aparecimento em grande escala desses bancos de sangue transformou a prática de medicina transfusional veterinária, uma vez que aumentou a disponibilidade de componentes sanguíneos e possibilitou a realização de procedimentos de alta complexidade com maior segurança. Para manter os seus estoques, os bancos de sangue contam com a colaboração de proprietários que voluntariamente permitem que seus cães doem sangue (SCHALM, 2010). Os animais doadores devem ser preferencialmente de grande porte, ter idade entre 2 e 8 anos, serem totalmente vacinados, e devem ser saudáveis, sendo submetidos a exames de rotina e exames para detecção de

uma variedade de doenças infecciosas, como erliquose e toxoplasmose, a cada 6-12 meses (ECLINPATH, 2018).

A infusão do hemocomponente é normalmente realizada via cateter, utilizando-se a veia cefálica como ponto de acesso. A dose e a frequência da transfusão podem variar de acordo com o componente utilizado e com a severidade da coagulopatia (APICELLA, 2009; STOKOL, 1998; THRALL et al., 2012). Transfusões de ST são geralmente aplicadas a casos mais graves envolvendo anemia com risco de vida. Antes de realizar esse tipo de transfusão, é imprescindível verificar se existe compatibilidade sanguínea entre receptor e doador, para tanto, deve-se realizar a tipagem sanguínea dos animais, bem como a prova de compatibilidade (ECLINPATH, 2018). Os cães possuem sete grupos sanguíneos de importância clínica, conhecidos como DEA1 e DEA 3 a 8 (do inglês, *Dog Erythrocyte Antigen*). Exceto para o grupo DEA1, que possui três subgrupos (DEA1.1, DEA1.2 e DEA1.3) que podem não ocorrer simultaneamente no mesmo cão uma vez que são fatores alélicos do locus DEA1, um cão pode ter um, todos os seis ou qualquer combinação dos grupos reconhecidos. Na Tabela 5, encontra-se detalhada a incidência de cada grupo sanguíneo na população canina (THRALL et al., 2012).

Tabela 5 - Tipos sanguíneos caninos, sua denominação e incidência aproximada.

Nome atual	Nome comum*	Incidência na população
DEA 1.1	A1	40%
DEA 1.2	A2	20%
DEA 3	B	5%
DEA 4	C	98%
DEA 5	D	25%
DEA 6	F	98%
DEA 7	Tr	45%
DEA 8	He	4%

*Os grupos sanguíneos foram designados por letras ordenadas pela ordem de descoberta dos grupos. Fonte: KRISTENSEN; FELDMAN, 2008 *apud* APICELLA (2009).

Cães não apresentam em seu organismo anticorpos naturais contra o sistema DEA1. No entanto, anticorpos contra DEA1.1 ou 1.2 são produzidos em um receptor negativo em 4 a 14 dias após a primeira transfusão incompatível e são capazes de gerar uma reação transfusional retardada que leva à rápida destruição dos eritrócitos

transfundidos, diminuindo a eficácia da transfusão e inviabilizando futuras transfusões incompatíveis. Por isso, esse sistema é considerado o de maior importância clínica, o que torna a tipagem para os antígenos DEA1.1 e 1.2 altamente recomendada (KRISTENSEN; FELDMAN, 2008 *apud* APICELLA, 2009).

Além destes dois tipos sanguíneos, ainda são dignos de nota o DEA4, que é o antígeno mais frequente e cuja sensibilização prévia de animais negativos pode causar reações agudas em transfusões incompatíveis. Caninos possuem anticorpos naturais de baixa avidéz contra os antígenos DEA3, 5 e 7, e erros transfusionais podem causar uma reação pós-transfusional tardia (SCHALM, 2010; THRALL et al., 2012).

Recomenda-se que a tipagem sanguínea seja sempre realizada antes de uma transfusão de ST, contudo, em casos de emergência, preconiza-se o uso de bolsas de doadores DEA1.1 negativo, o que limita a sensibilização e a ocorrência de reações de transfusão hemolítica aguda. Os métodos disponíveis para a detecção de antígenos DEA1.1 incluem cartões de digitação, kits de cartucho (teste rápido), aglutinação em tubo e coluna de aglutinação em gel dentro de microtubos. A realização da detecção dos demais antígenos DEA tem sido difícil devido à disponibilidade limitada dos reagentes e à dificuldade na interpretação dos resultados de aglutinação. Atualmente, a aglutinação em tubo é o único procedimento utilizado para testar os antígenos não-DEA1.1 (THRALL et al., 2012).

A falta de conhecimentos abrangentes sobre os grupos sanguíneos de caninos, associada à incapacidade de tipar os grupos não-DEA1, faz com que seja necessária a realização de testes de compatibilidade (prova cruzada) antes de qualquer transfusão, mesmo para cães com tipo sanguíneo conhecido (APICELLA, 2009). Na prova cruzada, são misturadas as hemácias do doador com soro do receptor (prova maior), e as hemácias do receptor com soro do doador (prova menor), e verifica-se se há alguma reação de aglutinação ou hemólise nos tubos. Um resultado positivo na prova maior significa que o receptor possui anticorpos contra as hemácias do doador, e um resultado positivo na prova menor indicam que o doador possui anticorpos contra os eritrócitos do receptor. A realização da prova cruzada minimiza o risco de reações transfusionais graves induzidas por anticorpos, no entanto, ressalta-se que um resultado compatível (sem aglutinação ou hemólise) não significa que o doador e o receptor possuem o mesmo tipo sanguíneo (THRALL et al, 2012).

Nos casos em que não existe anemia com risco de vida, é indicada a transfusão de crioprecipitado ou PFC. Os cães com hemofilia A respondem muito bem ao tratamento

com infusão de crioprecipitado ou de PFC, ambas terapias aumentam de forma similar a atividade de FVIII:C, entretanto, a infusão de crioprecipitado é mais recomendada para o tratamento ou a profilaxia da hemorragia, uma vez que ele não foi associado com qualquer reação adversa, diferentemente do PFC (APICELLA, 2009; STOKOL, 1998; THRALL et al., 2012). Na Tabela 6 está apresentado um comparativo entre as *guidelines* de dosagem do PFC e de crioprecipitado, além de suas principais indicações de uso (STOKOL, 1998).

Tabela 6. *Guidelines* de dosagem para componentes do plasma.

PRODUTO	DOSAGEM	INDICAÇÕES PRINCIPAIS
PFC	6-12 mL/kg q8-12h	Deficiências de fator, hipoproteïnemia
Crioprecipitado	6-12 mL/10kg q4-12h	Hemofilia A e B, deficiências de FII, FVII, FX e FIX

PFC – plasma fresco congelado. Adaptado de: SCHALM (2010).

Apesar de menos comum do que em humanos, em cães, existem relatos de desenvolvimento de inibidores circulantes do FVIII após terapia com crioprecipitado de origem canina. Nesses casos, o controle da hemorragia pode ser tentado por meio da utilização de transfusão extensiva e prolongada de hemoderivados (GILES et al., 1984; O’KELLEY et al., 2009).

Além dos tratamentos já mencionados, há opções limitadas de tratamento não-transfusional com acetato de desmopressina (DDAVP), que já é utilizado em humanos com hemofilia A leve. O DDAVP é um análogo da vasopressina (hormônio fisiológico) e aumenta as concentrações plasmáticas de FVIII ao induzir células endoteliais a liberarem FVIII complexado ao FvW (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015; STOKOL, 1998). Para cães, algumas evidências apoiam o uso de DDAVP para casos leves de hemofilias, mas ele parece não ser tão efetivo quanto em humanos (STOKOL, 1998).

Devido ao modelo canino se assemelhar muito ao modelo humano, muitas opções de tratamento não-transfusional são avaliadas quanto a sua eficácia em cães hemofílicos (THRALL et al., 2012). Uma dessas opções é a transferência de genes para cães hemofílicos A. Xu et al. (2005) demonstraram que a terapia gênica com vetor retroviral gama em cães neonatos resultou na produção de FVIII em concentrações terapêuticas, sem formação de inibidores. Margaritis et al. (2009) avaliaram o potencial terapêutico da transferência horizontal artificial de um gene de FVII ativado, mediado por

um vírus, estabelecendo expressão contínua desse gene em modelo canino de hemofilia A. Nesse estudo, obteve-se resultados satisfatórios quanto à diminuição de episódios hemorrágicos e desenvolvimento de inibidores, sem risco aumentado de trombose (MARGARITIS, 2009). A terapia genética ainda não está disponível para cães domésticos, sendo seu uso limitado para modelos experimentais, contudo, esses resultados são promissores e representam um importante avanço no tratamento desses animais.

4.4.6 O papel do farmacêutico na hemofilia A canina e no mercado veterinário

Como já mencionado, o mercado *pet* avança e mostra resiliência frente à desaceleração da economia, crescendo devagar e representando 0,38% do PIB brasileiro (ABINPET, 2017). A grande vertente desse mercado é o segmento saúde animal, que impulsionado pela tecnologia tem a projeção de crescer 13% em relação a 2015, compreendendo uma porcentagem de quase o dobro do mercado *pet* como um todo (POLI, 2017). O crescimento nesse nicho se dá pela mudança de comportamento dos donos dos animais, que passaram a ser mais cuidadosos e dar mais importância, investindo não só na medicina curativa, mas na preventiva também (POLI, 2017).

A tendência da medicina veterinária é igualar-se à medicina humana, tornando possíveis e utilizando procedimentos de alta complexidade, e dependendo cada vez mais de métodos laboratoriais para o diagnóstico das mais diversas doenças (SILVA, 2011). O campo das análises clínicas veterinárias pode, então, ser desbravado pelo farmacêutico, que possui amplo conhecimento adquirido durante a graduação sobre análise laboratorial, conhecendo a teoria e aplicação dos métodos diagnósticos (NORONHA, 2013). Os conjuntos de reagentes para uso veterinário utilizam princípios metodológicos e técnicas muito semelhantes aos utilizados para humanos, podendo muitas vezes serem utilizados os mesmos conjuntos. Da mesma forma, isso acontece para equipamentos automatizados, os de uso veterinário utilizam a mesma mecânica dos de humanos, necessitando apenas de *software* especializado (THRALL et al., 2012).

Dadas às características da hemofilia A, e seus sintomas inespecíficos para um diagnóstico definitivo, o farmacêutico pode, de acordo com a legislação vigente, atuar junto ao veterinário, realizando testes laboratoriais que ajudem a interpretar a clínica do paciente, complementando os exames físicos, ambos já mencionados anteriormente, o que se mostra de suma importância, uma vez que não é possível realizar uma anamnese

com o paciente, detectando sintomas específicos ou histórico familiar (NORONHA, 2013).

As constatações anteriores evidenciam a importância de se explorar mais a parte veterinária durante a graduação de farmácia, pois é um campo de atuação que se mostra muito promissor, e poucos profissionais o procuram por pleno desconhecimento de que são habilitados para atuar na área (NORONHA, 2013). Atualmente, segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuário e Abastecimento (MAPA), o Brasil possui laboratórios de diagnóstico animal em 24 dos 27 estados, totalizando mais de 100 laboratórios no país, nove dos quais são de Santa Catarina e destes, poucos não são de responsabilidade técnica de um veterinário, mostrando que o farmacêutico pode ainda inserir-se muito neste meio (MAPA, 2017).

No Brasil, não há regulamentação formal para os bancos de sangue veterinário. Nesse contexto, o Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo (CRMVSP) orienta que os bancos veterinários atendam as especificações para humanos (BBC, 2018). A produção de hemocomponente demanda um controle de qualidade adaptado aos mais altos padrões e exigências de segurança e eficácia, compatíveis com a produção de injetáveis, tema amplamente explorado durante o Curso de Graduação em Farmácia (CFF, 2018). Dessa forma, o farmacêutico também pode atuar aplicando seus conhecimentos na hemoterapia veterinária.

Em uma busca ativa na internet realizada pela autora do presente estudo, foram encontrados endereços de pelo menos 20 hemocentros dedicados exclusivamente para doação e processamento de hemoderivados veterinários no país, a maioria deles localizados na região Sudeste do país. Grande parte desses bancos de sangue contam com a presença de um farmacêutico na equipe para avaliar e monitorar os equipamentos, resultados laboratoriais e substâncias e insumos industrializados, como bolsas, seringas, filtros e outros equipamentos de transfusão e coleta. Adicionalmente, esses profissionais prestam assistência ao paciente, juntamente com o acompanhamento veterinário, muitas vezes auxiliando no manejo medicamentoso de efeitos pós-transfusionais (CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA, 2018; THRALL et al., 2012).

Por fim, o farmacêutico pode inserir-se no âmbito da pesquisa, buscando tratamentos exclusivos para o cão hemofílico que se adequem ao custo viável, pois as opções de maior complexidade, como FVIII recombinante, apresentam um custo elevado, sendo ainda inviável a sua utilização no mercado *pet* nacional (CONSELHO FEDERAL DE FARMACIA, 2018).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a realização deste trabalho, percebeu-se as dificuldades enfrentadas para interpretar clinicamente a hemofilia A, pois trata-se de uma coagulopatia com sintomas inespecíficos. Adicionalmente, pôde-se ter uma noção dos avanços que já foram alcançados em termos de diagnóstico e tratamento veterinário, e uma perspectiva do quanto ainda pode ser estudado e aprofundado.

Em paralelo, evidenciaram-se as áreas em que o farmacêutico pode se inserir no nicho veterinário, mostrando que é um mercado em ascensão com campos abertos, que deve ser mais explorado durante a graduação.

Como o presente trabalho espera-se um impacto extremamente positivo, pois mostra a união dos conhecimentos adquiridos no curso de graduação em farmácia com o segmento veterinário, buscando aprofundar e aplicar conhecimentos para uma futura profissão nessa área. Pôde-se compreender melhor os princípios da doação e transfusão de sangue canina, e também pude entender mais a complexidade do diagnóstico veterinário, da importância dos exames complementares, buscando ultrapassar o empecilho de tratar de pacientes que não conseguem transmitir ao examinador os seus sintomas.

REFERÊNCIAS

- ABINPET. **População Pet no Brasil**. Adaptado de IBGE, 2013. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/mercado/>>. Acesso em: 30 abr. 2018.
- ABINPET. **Dados do mercado**. Adaptado de IBGE, 2017. Disponível em: <<http://abinpet.org.br/site/mercado/>>. Acesso em: 30 abr. 2018.
- APICELLA, Camila. **Transfusão sanguínea em cães**. 2009. 52 f. Monografia (Especialização) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, 2009.
- AUSTEN, D.E; LECHNER, K; RIZZA,C.R; et al. A comparison of the Bethesda and New Oxford methods of factor VIII antibody assay. **Thromb Haemostasis** ed.47; p.72 – 75. 1982
- BACH, R.; NEMERSON, Y; KONIGSBERG, W; **Journal of Biological Chemistry**. v256, p8324-8331, California, 1981.
- BANKS, William J.; **Histologia Veterinária Aplicada** , 2 ed. São Paulo, Manole, 1991.
- BARR, James W.; MCMICHAEL, Maureen. Inherited disorders of hemostasis in Dogs and Cats. **Topics In Companion Animals Medicine**, Texas, v. 27, n. 2, p.53-58, maio 2012;
- BARROWCLIFFE, T. W; RAUT, S; SANDS, D et al.; **Coagulation and chromogenic assays of factor VIII activity: general aspects, standardization, and recommendations**. Seminar on Thrombotic Hemostasis, 2002. p247 – 256.
- Bleeding time tests. **Cornell University College of Veterinary Medicine**, Nova Iorque, 2014. Disponível em: <https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/coag/clinical/bleeding.cfm> acesso em 08/10/2018
- BOLTON-MAGGS, Paula Hb; PASI, K John. Haemophilias A and B. **The Lancet**, [s.l.], v. 361, n. 9371, p.1801-1809, maio 2003. Elsevier BV.
- BOUDREAUX MK, CATALFAMO JL, KLOK M: **Calcium-diacylglycerol guanine nucleotide exchange factor I gene mutations associated with loss of function in canine platelets** . Transl Res 150(2):81–92, 2007
- BOWEN, D. J. Haemophilia A and haemophilia B: molecular insights. **Journal Of Clinical Pathology: Molecular Pathology**, South Wales, v. 2, n. 55, p.127-144, maio 2002

BOYLAN, B.; MILLER, C. H.. Effects of pre-analytical heat treatment in factor VIII (FVIII) inhibitor assays on FVIII antibody levels. **Haemophilia**, [s.l.], v. 24, n. 3, p.487-491, 20 fev. 2018

BOZZINI, Carlos E. et al.; Hemostasia. In: HOUSSEY, Alberto B.; CIRGOLANI, Horácio E.; **Fisiologia Humana de Houssay**, 7 ed. Porto Alegre, Artmed, 2004. p. 255-313;

BRASIL. Constituição (2006). **Resolução nº 442, de 21 de fevereiro de 2006**. Rio de Janeiro, 01 mar. 2006. Seção 1, p. 90;

CASTILLO-GONZALEZ, Dunia. Hemofilia: aspectos históricos y genéticos; Em: **Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter**, Ciudad de la Habana. v. 28, n. 1, p. 22-33, março 2012 .

CATALFAMO J.L; DODDS W.J. **Hereditary and acquired thrombopathias**. Hemostasis, v18 p.185-193, Ontario, 1988.

CHRISTOPHERSON, Pete W. et al. Two novel missense mutations associated with hemophilia A in a family of Boxers, and a German Shepherd dog. **Veterinary Clinical Pathology**, [s.l.], v. 43, n. 3, p.312-316, 10 jul. 2014

CORDEIRO, Alexander Magno. REVISÃO SISTEMÁTICA: UMA REVISÃO NARRATIVA. **Comunicação Científica**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p.428-431, nov./dez. 2007.

CONSELHO FEDERAL DE FARMÁCIA. **CFR regulamenta atribuições do farmacêutico que atua na hemoterapia**. Disponível em:<<http://www.cff.org.br/noticia.php?id=3327>>. Acesso em: 31 out. 2018

CONTRAN, Ramzi S, et al.; Distúrbios hemodinâmicos, trombose e choque. In: CONTRAN, Ramzi S.; KUMAR, Vinay; et al.;. **Patologia Estrutural e Funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 546-567.

DAVIE, E. W; DISCIPIO, R. G; HERMODSON, M. A, (1977) **Biochemistry** 16, 5253-5260;

DODDS WJ. **Hemostasis**. Em: Clinical Biochemistry of Domestic Animals 5ª Ed, San Diego, 1997, p241-283.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

ECLINPATH, Cornell University. Disponível em: <<http://www.eclinpath.com>> Acesso em 10/10/2018

FORSYTHE, Leann T; WILLIS, Sandra e. Evaluating oral mucosa bleeding times in healthy dogs using a spring-loaded device. **Canadian Veterinary Journal**, Ontario, v. 30, n. 4, p.344-345, abr. 1989.

- GALANAKIS DK. **Plasma thrombin time and related tests.** In: Williams Hematology , 5th ed. New York: McGraw Hill , 1995 ; p91 – 93 .
- GAVAZZA, A.; LUBAS, G.; TROTTA, M.. Hemophilia A in a Belgian Shepard: A case study. **Research In Veterinary Science**, Padova, v. 97, p.96-98, 2014;
- GENTRY, P. A; JOHNSTONE, I. B. DIAGNOSIS OF CLASSIC HEMOPHILIA (HEMOPHILIA A) IN A STANDARD POODLE. **The Canadian Veterinary Journal**, Toronto, v. 18, n. 3, p.344-345, mar. 1977.
- GIANNELLI, F. et al. Haemophilia B: database of point mutations and short additions and deletions. *Nucleic Acids Research*, [s.l.], v. 18, n. 14, p.4053-4059, 1990. Oxford University Press (OUP)
- GILES, A R et al. Development of factor VIII:C antibodies in dogs with hemophilia A. **Blood**, Washington, v. 63, n. 2, p.451-456, fev. 1984.
- GLAUS T; HUDAK-GLAUS D; HOEPTNER C, et al; Activated coagulation time (ACT): two simple screening methods for evaluating coagulation disorders in dogs (German). **Schweiz Arch Tierheilkd** 1996 ; 138 : 532 – 536
- GONZÁLES, Félix H; SILVA, Sérgio C; **Patologia clínica veterinária: texto introdutório** – Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.
- GOODEVE, Anne C; The Molecular Basis of Hemophilia A: Genotype–Phenotype Relationships and Inhibitor Development. **Seminars In Thrombosis And Hemostasis**, Nova Iorque, v. 29, n. 1, p.23-31, out. 2003
- GUYTON, C. A.; HALL, J. E. ; **Tratado de Fisiologia Médica 11ª edição**; Tradução de Barbara de Alencar Martins... (et al.) - Rio de Janeiro: Elsevier, 2006 - 4ª tiragem.
- HARKER L.A; **The bleeding time as a screening test for evaluation of platelet function.** *New England Journal of Medicine*, 1972. Jul 27; v4: p155–159.
- HELN, H. **Haemophilia A in German shepherd dogs.** *Kennel Gazette*, 1986. Out; 11-13.
- HOUGH, C et al. Aberrant splicing and premature termination of transcription of the FVIII gene as a cause of severe canine hemophilia A: similarities with the intron 22 inversion mutation in human hemophilia. **Journal Of Thrombosis & Hemostasis**, Ontario, v. 87, n. 4, p.659-665, abr. 2002
- HULTIN MB. **Coagulation factor assay.** In: Williams Hematology, 5th ed . New York; McGraw - Hill, 1995. p89 – 90.
- INGRAM, G. I., **The history of haemophilia.** *J Clin Pathol.* 1976 Jun; 29(6): 469–479.

JERGENS, A.E et al. Buccal mucosa bleeding times of healthy dogs and of dogs in various pathologic states, including thrombocytopenia, uremia, and von Willebrand's disease. **American Journal Of Veterinary Research**, v. 48, n. 9, p.1337-1342, set. 1987.

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

KARGES, H.E; FUNK K.A; RONNEBERGER H; **Activity of coagulation and fibrinolysis parameters in animals**. *Arzneimittelforschung*, 1994. v44. p793 – 797 .

KOLDE, H. J; **Haemostasis: Physiology, Pathology, Diagnostics** , 2nd ed. Basel , Switzerland : Pentapharm , 2004 ; 66 – 74 , 78 – 135.

LANGER, Berillo; WOLOSKER, Marcus. Coagulação e fibrinólise: idéias atuais e suas aplicações clínicas. **Revista de Medicina**, São Paulo, v. 4, n. 85, p.157-164, out. 2006

LOZIER, Jay N.; NICHOLS, Timothy C.. Animal Models of Hemophilia and Related Bleeding Disorders. **Seminars In Hematology**, [s.l.], v. 50, n. 2, p.175-184, abr. 2013. Elsevier BV

LOZIER, Jay N; et al. **Severe Hemophilia A in a Male Old English Sheep Dog with a CT transition that created a premature stop codon in Factor VIII**. *Comparative Medicine - for American Association for Laboratory Animal Science*. North Carolina, p. 405-411. 2016. Elsevier BV

LOZIER, J. N. et al. The Chapel Hill hemophilia A dog colony exhibits a factor VIII gene inversion. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 99, n. 20, p.12991-12996, 19 set. 2002.

LUBAS, G., GAVAZZA, A., CALDIN, M., 2011. **Hemophilia A (factor VIII deficiency) in a family of Belgian Shepherd Malinois dogs bred in Italy**. *Proceedings 21st Congress*

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Diagnóstico Animal**, Brasília – DF, 2017.

MARGARITIS, P. et al. Successful treatment of canine hemophilia by continuous expression of canine FVIIa. **Blood**, [s.l.], v. 113, n. 16, p.3682-3689, 16 abr. 2009. American Society of Hematology.

MAYNARD, J. R.; DREYER, B. E; STEMERMAN, M. B & PITLICK, F. A; **Blood** v50, p387-396, 1977

MIL gatos, Marcos Dice. **PETÉQUIAS ABDOMINAIS (PONTOS HEMORRÁGICOS) EM CÃO**. Disponível em:
<<https://milgatos.wordpress.com/2015/01/20/petequias-abdominais-pontos-hemorragicos-em-cao-sugestivo-de-doenca-do-carrapato-o-diagnostico-e-fechado->

apos-minuciosos-exames-laboratoriais-e-pesquisa-do-hematozoario-traga-seu-animalzinho-na-a/>. Acesso em: 12 out. 2108.

MILETICH J.P; Prothrombin time. Em: **Williams Hematology ,5th ed.** Nova York, 1995; p82 – 84

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde (Org.). **Manual De Hemofilia.** 2. ed. Brasília - DF, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de diagnóstico laboratorial das coagulopatias hereditárias e plaquetopatias.** Brasília: Secretaria de Atenção à Saúde, 2010.

MISCHKE R. Activated partial thromboplastin time as a screening test of minor or moderate coagulation factor deficiencies for canine plasma: sensitivity of different commercial reagents. **Journal of Veterinary Diagnostics**, 2000, Invest. v12. p433 – 437.

MISCHKE, R et al. Canine haemophilia A caused by a mutation leading to a stop codon. **Veterinary Record**, v. 169, n. 19, p. 496, 2011

MORENO P; GINEL PJ . Effects of haemolysis, lipaemia and bilirubinaemia on prothrombin time, activated partial thromboplastin time and thrombin time in plasma samples from healthy dogs. **Research in Veterinary Science**, 1999. v67. p273 – 276.

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards .**One - stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)** Wayne, 1996.

NORONHA, Tais (Org.). Oportunidade nas Análises Clínicas. **Revista do Farmacêutico**, São Paulo, v. 114, n. 08, p.16-18, nov./dez. 2013.

OTTO, John C.. An account of an hemorrhagic disposition existing in certain families. **The American Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 11, n. 5, p.557-558, nov. 1951. out. 2016.

O'KELLEY, Benjamin M.; WHELAN, Megan F.; BROOKS, Marjory B.. Factor VIII inhibitors complicating treatment of postoperative bleeding in a dog with hemophilia A. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, [s.l.], v. 19, n. 4, p.381-385, ago. 2009. Wiley.

PIO, Simone Ferreira; OLIVEIRA, Guilherme Correa de; REZENDE, Suely Meirelles. As bases moleculares da Hemofilia A. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Belo Horizonte, v. 55, n. 2, p.213-219, nov. 2003

POLI, Mariana. Mercado pet cresce graças a mudanças no comportamento dos donos de animais de estimação. **Você S/A**, São Paulo, v. 223, n. , p.23-24, jan. 2017.

RAO, L.V.M., RAPAPORT, S.I. (1988) **Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A** 85, 6687-6691;

ROSENDAAL, Goris et al. Evaluating oral mucosa bleeding times in healthy dogs using a spring-loaded device. **Arthritis & Rheumatology**, [s.i], v. 42, n. 5, p.1033-1039, mar. 2001.

ROTHER, Edna Terezinha. Revisão sistemática X revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, [s.l.], v. 20, n. 2, p.23-24, jun. 2007.

SABATINO, D. E. et al. Recombinant canine B-domain-deleted FVIII exhibits high specific activity and is safe in the canine hemophilia A model. **Blood**, [s.l.], v. 114, n. 20, p.4562-4565, 21 set. 2009.

SCHALM, Oscar William; WEISS, Douglas J.; WARDROP, Jane K. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Blackwell, 2010; Sept 8–10, S pp. 253–254.

STOKOL, Tracy; PARRY, Bruce W.. Efficacy of fresh-frozen plasma and cryoprecipitate in dogs with VonWillebrand disease and Hemphilia A. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, Melbourne, v. 5, n. 12, p.84-92, abr. 1998.

SWENSON, Melvin J. ; Circulação sanguínea e sistema cardiovascular. In: SWENSON, Melvin J. & REECE, William O.; **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996. p. 332-400

TAKAHIRA, Regina K; **Distúrbios da hemostasia em veterinária: patogenia e avaliação clínico laboratorial**. In: GONZALES, Félix H. Diaz; CAMPOS, Rómulo. **Anais do I simpósio de patologia clínica veterinária da região sul do Brasil**. Porto Alegre: Ufrgs, 2003. p. 49-64.

THRALL, Mary Anna et al. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015;

TSENG, L,W; HUGHES, D; GIGER,U; Evaluation of a point - of - care coagulation analyzer for measurement of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and activated clotting time in dogs . **American Journal Veterinary Reaserch**, 2001 ; v62 : p1455 – 1460 .

VAN COTT, E.M; LAPOSATA, M; Coagulation . In: Jacobs DS , Oxley DK , DeMott WR , eds. **The Laboratory Test Handbook** , 5th ed. Cleveland, 2001; p327 – 358

WINFIELD, Laramie S; BROOKS, Marjorie B. Hemorrhage and blood loss-induced anemia associated with an acquired coagulation factor VIII inhibitor in a Thoroughbred mare. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**. Ithaca, p. 719-723. mar. 2014.