

UNIVERSIDADE METROPOLITANA DE SANTOS

KARINA D'ELIA ALBUQUERQUE

**CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA PIOMETRA E  
SUA RELAÇÃO COM A HEMOSTASIA NA ESPÉCIE CANINA**

**Santos**

**2019**

KARINA D'ELIA ALBUQUERQUE

**CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA PIOMETRA E  
SUA RELAÇÃO COM A HEMOSTASIA NA ESPÉCIE CANINA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

**Área de concentração:**  
Medicina Veterinária

**Orientadora:**  
Profa. Dra. Cristina de Fátima Lucio

Santos  
2019

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ALBUQUERQUE, Karina D'Elia

Título: Caracterização clínica e histopatológica da piometra e sua relação com a hemostasia na espécie canina”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo, na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

## RESUMO

Albuquerque, K. D. **Caracterização histopatológica da piometra e sua relação com a hemostasia na espécie canina** [Clinical and histopathological characterization of pyometra and its relation to hemostasis in the dog]. 2019. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019

A piometra é uma afecção uterina que acomete cadelas sob ação da progesterona. Trata-se de uma afecção grave que ainda desafia o médico veterinário no momento de determinar o prognóstico do paciente. O objetivo deste experimento foi avaliar os diferentes graus de lesão uterina promovido pela piometra em cadelas e sua influência na concentração dos fatores de coagulação. Para a realização do experimento, foram selecionadas 12 cadelas em diestro citológico, submetidas à ovariectomia (OHE) eletiva, compondo o grupo diestro e 15 cadelas diagnosticadas com piometra cujo tratamento foi a OHE, compondo o grupo piometra. Foi colhido sangue previamente ao procedimento cirúrgico, de todas as fêmeas, para realização de hemograma completo, proteína plasmática (PT), função renal, função hepática e análise dos fatores de coagulação: contagem de plaquetas, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e fibrinogênio. Ainda, foram coletados três fragmentos uterinos das seguintes regiões: corno uterino direito, corno uterino esquerdo e corpo do útero para avaliação histopatológica. No grupo piometra as cadelas apresentaram valores de hemácias ( $5,08 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 1,64$ ), hematócrito ( $31,47\% \pm 8,20$ ) e hemoglobina ( $10,48 \text{ g/dL} \pm 3,45$ ) abaixo dos valores de referência, diferente do grupo diestro, em que os valores estavam dentro da normalidade (hemácia:  $6,40 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 1,15$ ; hematócrito:  $47,17\% \pm 4,78$ ; hemoglobina:  $15,66 \text{ g/dL} \pm 1,63$ ). A dosagem de proteína total no grupo piometra estava acima do valor de referência ( $8,18 \text{ g/dL} \pm 0,84$ ), enquanto o grupo diestro apresentou valor dentro da normalidade. Ainda, fêmeas do grupo piometra apresentaram leucocitose acentuada ( $37920 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 16756,67$ ), devido ao processo inflamatório gerado pelo quadro de piometra, fato não observado nas fêmeas em diestro ( $8991,67 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 1993,38$ ). O perfil renal (ureia e creatinina) estavam dentro do intervalo de referência grupo diestro ( $39,50 \text{ mg/dl}$ ) e grupo piometra ( $59,73 \text{ mg/dl}$ ) e a função hepática a dosagem de ALT tanto para o grupo piometra e no grupo diestro

respectivamente (60,38 e 34,33 U/L) e a dosagem de fosfatase alcalina (ALP) para o grupo diestro estava dentro da faixa de normalidade (95,13) diferente do grupo piometra que está superior ao valor de referência para a espécie (321,53 U/L). O perfil hemostático na piometra (plaquetas  $260600,00 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 151203,17$ ; TP:  $7,57 \pm 1,15$  segundos e TTPa:  $21,18 \pm 8,41$  segundos e fibrinogênio:  $368,93 \pm 153,68$  mg/dl) não apresentou diferença com o grupo diestro (plaquetas:  $320250,00 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 79713,36$ ; TP:  $7,35 \pm 0,49$  segundos; TTPa:  $17,84 \pm 5,15$  segundos e fibrinogênio:  $424,33 \pm 173,34$  mg/dl). Apesar de não haver diferença estatística, foi observado TTPa superior ao limite da normalidade no grupo piometra. Na análise histopatológica, os fragmentos uterinos foram classificados como diestro ou piometra, e no grupo piometra as lâminas foram classificadas em tipo I, II, III, conforme características do tecido. Na análise histopatológica foi possível verificar que a presença de dilatação cística de glândulas endometriais, processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico, difuso e acentuado e processo inflamatório em mucosa, foram diferenciais para o diagnóstico da piometra em relação ao diestro. Com base nos achados, pode-se concluir que é de grande importância o diagnóstico precoce de cadelas com piometra, para que se tenha um prognóstico favorável no que se diz respeito à hemostasia, função renal e hepática.

**Palavra-chave:** hiperplasia endometrial cística, cadelas, fatores de coagulação, progesterona.

## ABSTRACT

Albuquerque, K. D. **Histopathological characterization of pyometra and its relation to hemostasis in the dog** [Caracterização clínica e histopatológica da piometra e sua relação com a hemostasia na espécie canina] 2019. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019

Pyometra is a uterine condition that affects bitches under the action of progesterone. It is a serious condition that still challenges the veterinarian when determining the patient's prognosis. The objective of this experiment was to evaluate the different degrees of uterine injury promoted by pyometra in bitches and their influence on the production of coagulation factors. For the experiment, 12 female dogs were selected on cytological dystrophy, submitted to elective hysterectomy, constituting the diestrous group and 15 female dogs diagnosed with pyometra, whose treatment was OSH, comprising the pyometra group. Blood samples were taken before the surgical procedure, from all females, for complete blood count, renal function, liver function and coagulation factors analysis: platelet count, prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and fibrinogen. In addition, three uterine fragments were collected from the following regions: right uterine horn, left uterine horn and uterine body for histopathological evaluation. In the GP group, the bitches presented values of red blood cells ( $5.08 \times 10^6 / \mu\text{L} \pm 1.64$ ), hematocrit ( $31.47\% \pm 8.20$ ), and hemoglobin ( $10.48 \text{ g} / \text{dL} \pm 3.45$ ) below the values (hematocrit:  $47.017\% \pm 4.78$ , hemoglobin:  $15.66 \text{ g} / \text{dL} \pm 1$ , hematocrit, hematocrit, 63). The total protein dosage in the pyometra group was above the reference value ( $8.18 \text{ g} / \text{dL} \pm 0.84$ ), while the diestrous group presented a value within normal limits. Still, pyometra group females presented marked leukocytosis ( $37920 \times 10^3 / \mu\text{L} \pm 16756,67$ ), due to the inflammatory process generated by the pyometra, a fact not observed in right-handed females ( $8991.67 \times 10^3 / \mu\text{L} \pm 1993,38$ ). The hemostatic profile on the pyometra (platelets  $260600,00 \times 10^3 / \mu\text{L} \pm 151203,17$ ; TP:  $7.57 \pm 1.15$  seconds and aPTT:  $21.18 \pm 8.41$  seconds and fibrinogen:  $368.93 \pm 153.68 \text{ mg} / \text{dl}$ ) showed no difference with the diestrous group (platelets:  $320250,00 \times 10^3 / \mu\text{L} \pm 79713,36$ ; TP:  $7,35 \pm 0,49$  seconds; aPTT:  $17.84 \pm 5.15$  seconds and fibrinogen:  $424.33 \pm 173.34 \text{ mg} / \text{dl}$ ), although there was no statistical difference, aPTT greater than the limit of normality was

observed in the pyometra group. In the histopathological analysis, the uterine fragments were classified as diestrous or pyometra, and in pyometra group the slides were classified as type I, II, III, according to tissue characteristics. In the histopathological analysis it was possible to verify that the presence of cystic dilation of the endometrial glands, polymorphonuclear/eosinophilic inflammatory process, diffuse and accentuated and inflammatory process in the mucosa, were differential for the diagnosis of pyometra in relation to the diestrous. In conclusion, the early diagnosis of bitches with pyometra is of great importance in order to have a favorable prognosis regarding hemostasis, renal and hepatic function.

**Keywords:** cystic endometrial hyperplasia, bitches, coagulation factors, progesterone.

## DEDICATÓRIA

Aos meus filhos, **Breno, Lorena e Isabela.**

Meus amores incondicionais, eu faria tudo de novo!

Obrigada por me escolherem! e saibam, eu estarei presente

Até o meu último suspiro!

Meu amado e eterno amor, **Ruy**, obrigada!

Por ser meu companheiro de todas as horas.

Das tristezas, alegrias, angústia, ansiedade, sem você, eu nada seria...

Te amo para todo o sempre.

Aos meus amados pais **Berval e Célia.**

Obrigada por estarem sempre presente.

Vocês são os meus exemplos de amor.

União e cumplicidade, amo vocês!

Vocês são o ar que eu respiro!!

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por mais esta conquista, obrigada Pai, por me guiar e amparar.

Em especial minha orientadora muito amada Cristina de Fátima Lúcio, obrigada pela paciência, companheirismo, ensinamentos e acreditar que tudo seria possível, gratidão eterna, você estará para sempre em meu coração, quero ser igual a você.

Aos meus filhos amados, Breno, Lorena e Isabela, obrigada pelo simples fato de vocês existirem, vocês são os bens mais preciosos que um ser humano pode ter.

Ao meu amado Ruy, pelo seu companheirismo e compreensão em tudo que faço, TE AMO!

Aos meus pais Berval e Célia, minha gratidão eterna, vocês sacrificaram sonhos para que eu pudesse ser médica veterinária, e hoje mais um sonho se realiza e sempre amparado por vocês, vocês são meu porto seguro, AMO VOCÊS!

A minha sogra, Zeni Mary, pela dedicação aos meus filhos na minha ausência, minha gratidão imensa, pois sei que minhas maiores riquezas estão sendo amadas e cuidadas em minha falta, meu eterno Obrigado!

Quero agradecer aos aprimorandos da Universidade de Guarulhos, Breno, Denise, Luann, Jaqueline, Carolina, Samara, Grillo, Leonardo Aline, Victória, Bruna, Marina, Suzane, Taine, Nathália, Fernanda por estarem sempre me auxiliando e colaborando com a execução deste trabalho.

Agradeço a Codevida pelo acolhimento nas Campanhas de Castração, pelo espaço concedido a mim e principalmente a Médica Veterinária Paloma, um exemplo de dedicação e uma profissional admirável.

Agradeço ao Professor Milton Azedo, por nos abraçar sempre e por fazer parte deste trabalho, gratidão e admiração eterna Tio!

Agradeço a Equipe do laboratório de Patologia Animal e Clínica da Universidade de Guarulhos, Denise, Breno, Patrícia pela colaboração constante com a execução deste trabalho.

Agradeço ao Professor Franco Caldeira, pela paciência e companheirismo.

Agradeço a cada animal que contribui para este trabalho, o amor incondicional destes seres me impulsiona a querer ser uma profissional melhor.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte deste trabalho e me perdoem se deixei de citar alguém

O meu muito obrigada!!

Gratidão eterna

Três verbos existem que, bem conjugados, serão lâmpadas luminosas em nosso caminho:

Aprender, Servir e Cooperar.

Três atitudes exigem muita atenção:

Analisar, Reprovar e Reclamar.

Três normas de conduta que jamais nos arrependemos:

Auxiliar com a intenção do bem, Silenciar e Pronunciar frases de bondade e estímulo.

Três diretrizes manter-nos-ão, invariavelmente, em rumo certo:

Ajudar sem distinção, Esquecer todo mal e Trabalhar sempre.

Três posições que devemos evitar em todas as circunstâncias:

Maldizer, Condenar e Destruir.

Possuímos três valores que, depois de perdidos, jamais serão recuperados:

A hora que passa, A oportunidade e A palavra falada.

Três programas sublimes se desdobram à nossa frente,

revelando-nos a glória da Vida Superior:

Amor, Humildade e Bom ânimo.

Que o Senhor nos ajude, pois, em nossas necessidades, a seguir sempre três abençoadas

regras de salvação:

Corrigir em nós o que nos desagrada em outras pessoas,

Amparar-nos mutuamente,

Amar-nos uns aos outros

Chico Xavier

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Vias extrínseca, intrínseca e comum da cascata de coagulação	27
Figura 2 – Cortes histológicos de útero de cadela, aumento 10x. A: Diestro; B Piometra Grau I. C: Piometra Grau II e D: Piometra Grau III. Santos 2019	42
Quadro 1 – Fatores envolvidos na cascata de coagulação	28
Quando 2 – Classificação histopatológica de útero de cadela com piometra de acordo com o processo inflamatório, aspectos e alterações arquiteturais. Santos, 2019	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média e desvio padrão da idade dos animais dos grupos diestro e piometra. Santos – 2019	39
Tabela 2 – Média e desvio padrão das variáveis do hemograma da grupos diestro e piometra. Santos – 2019	40
Tabela 3 – Média e desvio padrão das análises de função renal e função hepática da grupos diestro e piometra. Santos – 2019	41
Tabela 4 – Média e desvio padrão dos fatores de coagulação dos grupos diestro e piometra. Santos – 2019	41
Tabela 5 – Classificação clínica e histopatológica dos fragmentos do corpo uterino, corno direito e corno esquerdo do útero. Santos – 2019	43
Tabela 6 – Dilatação cística de glândulas endometriais no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	44
Tabela 7 – Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico em todas as amostras, no corpo uterino, no corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	45
Tabela 8 – Processo inflamatório difuso e acentuado no corpo uterino, no corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	46
Tabela 9 – Processo inflamatório leve em corpo uterino, corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	47
Tabela 10 – Processo inflamatório linfoplasmocítico no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra - Santos – 2019	47
Tabela 11 – Processo inflamatório com predomínio de neutrófilos e macrófagos no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra – Santos -2019	48
Tabela 12 –Processo inflamatório linfoplasmocítico e neutofílico no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	49
Tabela 13 –Processo inflamatório com focos hemorrágicos no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	50
Tabela 14 – Presença de congestão e hemorragia difusa e moderada no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos 2019	51
Tabela 15 – Processo inflamatório de mucosa no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019	51

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
2.1	ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOPATOLÓGICOS DO ÚTERO.....	16
2.2	CICLO REPRODUTIVO DA FÊMEA .....	17
2.2.1	Proestro .....	18
2.2.2	Estro .....	18
2.2.3	Diestro .....	19
2.3	COMPLEXO HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA-PIOMETRA.	19
2.4	HEMOSTASIA .....	24
2.4.1	Hemostasia primária .....	25
2.4.2	Hemostasia secundária .....	26
2.4.3	Fibrinólise .....	28
2.5	PERFIL HEMOSTÁTICO .....	29
2.5.1	Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa).....	30
2.5.2	Tempo de Tromboplastina (TP).....	30
2.5.3	Fibrinogênio .....	31
<b>3</b>	<b>HIPÓTESE.....</b>	<b>32</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVO .....</b>	<b>33</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
5.1	ANIMAIS E CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	34
5.2	DETERMINAÇÃO DA FASE DO CICLO ESTRAL.....	34
5.3	ANÁLISE HEMATOLÓGICA .....	35
5.3.1	Hemograma .....	35
5.3.2	Análises Bioquímicas .....	36
5.3.3	Análise dos Fatores de Coagulação .....	36
5.4	EXAME HISTOPATOLÓGICO DO ÚTERO.....	37
5.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	38
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>59</b>

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>
---	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida dos cães corrobora com o aumento de algumas afecções relacionadas com a senilidade. Dentre as alterações observadas nas fêmeas caninas idosas, destaca-se a piometra.

A piometra, é caracterizada pelo acúmulo de exsudato purulento no interior do útero, cuja etiologia hormonal é associada à infecção bacteriana ascendente (HAGMAN, 2017). A piometra ocorre no diestro, associada a uma anormalidade do endométrio consequente de uma resposta exagerada ao estímulo da progesterona, propiciando o desenvolvimento bacteriano (HAGMAN, 2012). Os fatores predisponentes são pseudociese, nuliparidade, administração exógena de estrógeno e progesterona e disfunção na fase do ciclo estral (HOLST et al., 2013).

Os sinais clínicos associados à piometra são secreção purulenta vaginal, quando a fêmea apresenta a cérvix aberta, poliúria, polidipsia, desidratação, apatia, anorexia, vômitos, diarreia, febre ou hipotermia e sensibilidade abdominal (JITPEAN et al., 2012). Os sinais clínicos podem progredir para choque ou morte, principalmente pela insuficiência renal, que é uma das complicações da doença, aumentando a taxa de mortalidade destas cadelas (GARCIA FILHO et al., 2012).

O diagnóstico se dá no período de 30 dias até 2 meses após o estro e é baseado na história clínica do paciente, exames laboratoriais e de imagens (GARCIA FILHO et al., 2012). Em quadros avançados da doença, principalmente quando a cérvix está fechada, o útero se encontra distendido e as paredes delgadas, o endométrio está atrofiado e com infiltrados de linfócitos e plasmócitos, podendo resultar em sepse (ETTINGER; FELDMAN 2004). A sepse é a principal causa de morte em animais, e isto se dá devido a endotoxemia e consequente perda do equilíbrio entre os mediadores solúveis pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, levando a uma disfunção hemostática (GONÇALVES, 2010).

As coagulopatias podem ser desencadeadas em pacientes com enfermidades que culminam em quadros clínicos graves. Dentre as possibilidades diagnósticas pode-se realizar o coagulograma, representado dentre outros exames, pelo tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). Neste exame é possível detectar aumento do tempo de coagulação, que pode ser consequência da baixa produção dos

fatores relacionados a hemostasia ou, a ativação da coagulação, que por sua vez, promove o consumo destes fatores (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

Contudo, a avaliação do perfil de coagulação não é realizada com frequência pelos clínicos e cirurgiões veterinários e, tendo em vista as graves consequências que podem ser observadas quando ocorrem estas alterações na piometra, a determinação do perfil de coagulação é de suma importância para auxiliar o médico veterinário na determinação do prognóstico do paciente, além de permitir medidas profiláticas durante o período pré operatório.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOLÓGICOS DO ÚTERO

O útero está localizado em região abdominal e consiste em uma estrutura tubular contínua a partir da vagina que bifurca em dois cornos uterinos. Sua parede é formada por endométrio, miométrio e perimétrio. O endométrio é constituído por epitélio superficial simples cilíndrico, podendo ser cúbico em algumas áreas (MONTEIRO et al., 2009). O endométrio apresenta glândulas responsáveis por sintetizar, secretar e transportar substâncias essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento do embrião (SPENCER; BAZER, 2004). Alterações, tanto estruturais quanto funcionais, podem ocorrer de acordo com a fase do ciclo estral, devido a ação dos hormônios progesterona e estradiol (ETTINGER; FELDMAN, 2004). A progesterona estimula o crescimento, a proliferação e aumento da secreção das glândulas endometriais, o fechamento cervical e a supressão das contrações miométricas. A resposta leucocitária local e a resistência do útero à infecção bacteriana também diminuem sob a ação deste hormônio (HAGMAN, 2018).

O miométrio consiste em uma camada circular de musculatura lisa, localizada abaixo do endométrio (BANKS, 1992). O estrato vascular, localizado entre as camadas do músculo liso do miométrio é uma camada espessa com inúmeros vasos sanguíneos (NASCIMENTO; SANTOS, 2003).

O perimétrio consiste em tecido conjuntivo frouxo coberto pelo mesotélio peritoneal. Células musculares lisas, numerosos vasos linfáticos e sanguíneos e fibras nervosas estão presentes nesta camada (PRIEDKALNS, 1982).

A cérvix é uma estrutura tubular que comunica a vagina cranial e o corpo uterino encontrando-se intrapélvica, localizada entre o reto e a vesícula urinária. Sua função é semelhante a de um esfíncter, pois ela controla a comunicação entre útero e vagina, possuindo um lúmen estreito, pregas longitudinais na mucosa e camada muscular mais firme do que as demais estruturas (BANKS, 1992). Ao corte histológico a cérvix é formada por epitélio simples cilíndrico e inúmeras células mucigênicas e caliciformes, que são responsáveis pelo aumento do muco em períodos como estro e gestação (PRIEDKALNS, 1982).

## 2.2 CICLO REPRODUTIVO DA CADELA

A cadela é uma fêmea monoéstrica, isto é, exibe apenas um ciclo estral por época reprodutiva. A puberdade é alcançada entre 6 e 14 meses, com variação entre raças (CONCANNON, 2011). O intervalo de tempo entre o início e fim de um ciclo reprodutivo pode levar de 4 a 12 meses, com média geralmente de 6 meses em decorrência de variações nutricionais, individuais, sazonais e raciais (NELSON; COUTO, 2006).

Apesar das cadelas apresentarem ciclos ovarianos ao longo do ano, há uma certa concentração dos cios no final do inverno e começo da primavera de forma que os filhotes nasçam em um ambiente mais favorável (ETTINGER; FELDMAN, 2004). A reprodução da cadela é indicada, em média, até os 7 anos de idade. A medida que as fêmeas caninas vão envelhecendo, várias mudanças podem ocorrer, como o progressivo aumento no intervalo interestro, redução no tamanho das ninhadas, aumento na ocorrência de defeitos congênitos e distocias. Entretanto, cadelas saudáveis apresentam ciclos estrais durante toda a vida, diferentemente da espécie humana que apresenta a menopausa com interrupção da atividade reprodutiva (POPPL, 2008).

O ciclo estral da cadela compreende quatro fases características, o proestro, o estro e o diestro e são intercaladas por um período de repouso reprodutivo, o anestro. A variação individual e entre raças na duração do intervalo entre ciclos estrais é sobretudo devido à variação na duração do anestro (40 a 270 dias, em média 120 dias) e em menor grau do diestro, também chamado de fase lútea (60 a 90 dias, em média 65 dias). Também é observada variação individual na duração do proestro (2 a 15 dias, em média 9 dias) e estro (3 a 12 dias, em média 10 dias) (OLIVEIRA; MARQUES JÚNIOR; NEVES, 2003; CONCANNON, 2011).

A cadela, de forma semelhante a outras espécies, tem um padrão cíclico de crescimento folicular e ovulação determinado por interações hormonais do eixo hipotalâmico – hipofisário – gonadal. Entretanto, possui particularidades no ciclo estral que a diferem de outras fêmeas, dentre elas a ovulação de ovócitos primários, cuja maturação final ocorre nas tubas uterinas, luteinização pré-ovulatória dos folículos terciários e manutenção de corpos lúteos ativos mesmo que não ocorra gestação (RENTON et al., 1991; FARSTAD, 2000; TSUTSUI et al., 2009; CONCANNON, 2011).

### **2.2.1 Proestro**

O proestro é caracterizado pelo retorno da atividade reprodutiva e sua duração aproximada é de 10 até 21 dias, com início dos sinais clínicos, tais como, edema vulvar, corrimento vulvar serossanguíneo e atração do macho. Estas alterações são relacionadas ao aumento das concentrações séricas de estradiol produzido pelos folículos ovarianos em crescimento. O final do proestro é marcado por um pico de concentração sérica do estrógeno que culminará com a liberação do pico do hormônio luteinizante (LH) (RENTON et al., 1991; CONCANNON, 2011).

O LH é liberado pela hipófise anterior de forma pulsátil e estimula a maturação, luteinização e ovulação dos folículos ovarianos (RAMOS, 2014). Observam-se pequenas ondas de LH nesta fase, e ao final do período, alcança um pico 48 horas antes da ovulação. Esta onda pré-ovulatória de LH tem uma duração de 24 a 48 horas (ETTINGER; FELDMAN 2004). No final do proestro a concentração de progesterona começa a subir gradualmente, coincidindo com a queda do estradiol (RAMOS , 2014).

### **2.2.2 Estro**

O estro tem duração de 3 a 21 dias, com média de 9 dias. Clinicamente, o início do estro é marcado pela regressão do edema e do corrimento vulvar serossanguíneo, além de receptividade sexual da fêmea. Hormonalmente é caracterizado pelo declínio do estrógeno e aumento da progesterona circulante (BRUGGER et al., 2011; CONCANNON, 2011).

Na cadela a ovulação é espontânea e ocorre, em média 48 horas após a onda pré-ovulatória de LH, com variação entre 24 e 72 horas. A cadela ovula ovócitos primários e a primeira divisão meiótica se completa no oviduto dentro de três dias após a ovulação (RENTON et al., 1991; CONCANNON, 2011).

### 2.2.3 Diestro

O diestro tem duração média de 75 dias, e seu início é marcado pelo fim do estro (ETTINGER; FELDMAN, 2004). A cadela nesta fase não atrai o macho e apresenta-se menos ativa, quando comparado ao estro (CONCANNON, 2011). É caracterizada pelo predomínio da progesterona, semelhante ao observado na gestação, uma vez que não há um sistema de reconhecimento da gestação na espécie canina. Desta forma, o corpo lúteo permanece ativo o tempo de uma gestação, apesar de não haver feto (POPPL, 2008; BRUGGER et al., 2011). O final do diestro é caracterizado pela luteólise, com declínio ao final da fase, com valores inferiores a 1 ng/mL sinalizando a fase de repouso reprodutivo.

O útero apresenta aumento de volume em resposta à prolongada ação da progesterona, cerca de 20 a 30 dias após o início do proestro. Este aumento coincide com o período de maior secreção da progesterona (CONCANNON, 2011). Ao final do diestro a involução do útero ocorre entre 1 e 3 meses, representando um dos possíveis fatores envolvidos na duração do anestro (POPPL, 2008).

## 2.3 COMPLEXO HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA – PIOMETRA

A Hiperplasia Endometrial Cística (HEC) é uma alteração uterina que antecede a piometra e ocorre principalmente em fêmeas mais velhas, e isto se dá pela exposição do endométrio a elevados níveis de progesterona durante o período de diestro. A progesterona, em concentrações elevadas por um longo período estimula a atividade secretória do endométrio, crescimento das glândulas endometriais e inibição da atividade do miométrio promovendo espessamento do tecido uterino, acúmulo de secreções e aspecto edematoso do útero (NELSON; COUTO, 2015). Enquanto não houver contaminação, o processo é chamado de HEC, contudo, animais mais velhos, com diminuição da resposta imunológica local, podem ter a ascensão de bactérias da flora vaginal para o interior do útero. A associação da secreção das glândulas endometriais à contaminação bacteriana e à menor contratilidade uterina devido a ação da progesterona levam a produção de secreção purulenta no interior do útero, caracterizando a piometra

(PRETZER, 2008; VERSTEGEN; DHALIWAL; VERSTEGEN-ONCLIN, 2008). Outro efeito negativo da progesterona é a maturação de antígenos presentes nas células dendríticas do útero diminuindo a resposta imunológica adequada (HAGMAN, 2018).

A piometra é resultado de alterações induzidas hormonalmente no útero, que permitem a ocorrência de infecções secundárias (ETTINGER; FELDMAN, 2004). O estrógeno aumenta a quantidade de receptores de progesterona no útero e acredita-se que níveis elevados e prolongados de progesterona resultem em hiperplasia endometrial cística com acúmulo de líquido no interior das glândulas endometriais e lúmen uterino (SMITH, 2006; SANTOS, 2014). As concentrações circulantes de estrógeno e progesterona geralmente não são anormalmente elevadas na piometra e acredita-se que um aumento no número e na sensibilidade dos receptores hormonais iniciem uma resposta amplificada (HAGMAN, 2018).

A sintomatologia habitual da piometra torna-se evidente no período de 4 a 10 semanas após o estro, com manifestações clínicas associadas principalmente ao sistema genital. Na piometra de cérvix aberta é comum a secreção mucopurulenta, já na piometra de cérvix fechada há ausência de secreção, porém, com quadro sistêmico predominantemente grave (HAGMAN, 2018). A cadela pode apresentar êmese, diarreia, desidratação, anorexia, depressão, letargia, poliúria, polidipsia, febre e distensão abdominal (SANTOS, 2014). Os sinais podem progredir para o choque ou morte (EVANGELISTA, 2010). A insuficiência renal aguda é uma das principais complicações da enfermidade, elevando a mortalidade em 70% (EVANGELISTA, 2010).

A piometra pode ser classificada de acordo com a abertura ou fechamento da cérvix. Na piometra de cérvix aberta haverá presença de corrimento vaginal e os cornos uterinos não apresentam dilatação intensa. Na piometra de cérvix aberta há presença de maior infiltrado neutrofílico resultando na produção da enzima colagenase, a qual degrada o colágeno e promove aumento da permeabilidade tecidual e, conseqüentemente, relaxamento da cérvix (KUNKITTI; SRISUWATANASAGUL; Já na piometra de cérvix fechada não há presença de corrimento vaginal e o acúmulo purulento intrauterino leva à distensão dos cornos uterinos e conseqüente adelgaçamento das paredes uterinas com atrofia do endométrio e infiltrado plasmocítico e linfocitário (SMITH, 2006). A distensão excessiva do útero pode gerar torção e até ruptura uterina, com derramamento de conteúdo purulento em cavidade abdominal agravando o quadro clínico do animal, com evolução rápida para peritonite e sepse (GONÇALVES, 2010). A piometra de cérvix fechada não apresenta secreção vaginal e, como conseqüência do acúmulo de secreção no

lúmen uterino apresenta distensão abdominal e maior presença de toxinas circulantes, o que resulta em sinais clínicos intensos quando comparados ao da piometra aberta resultando mais facilmente em septicemia, podendo resultar em choque, hipotermia e colapso (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

A principal bactéria encontrada na piometra é a *Escherichia coli*, esta é residente natural da flora vaginal, possuindo um sítio de ligação no endométrio estimulado pela progesterona (HAGMAN, 2016). Além da *E.coli* podem ser encontradas outras bactérias, tais como *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, porém em menor frequência (VERSTEGEN; DHALIWAL; VERSTEGEN-ONCLIN, 2008; HAGMAN, 2018).

A ocorrência da piometra se dá principalmente em cadelas com idade entre 6 e 8 anos. Algumas raças são mais predispostas ao desenvolvimento desta afecção, como o Rottweiler, Golden Retriever, Schnauzer miniatura, Airdale terrier, Cavalier King Charles Spaniel e Bernese Mountain Dog (JITPEAN et al., 2012).

Na piometra é possível encontrar azotemia pré-renal em casos de desidratação, hipovolemia e sepse, e azotemia renal, resultante de uma perda de néfrons pela formação de anticorpos contra antígenos uterinos levando a lesão glomerular (PRATSCHKE, 2016). A glomerulonefrite imunomediada reduz a capacidade de concentração urinária devido a diminuição da taxa de filtração glomerular, cuja evolução é gradual podendo levar a insuficiência renal (FIGUEIREDO et al., 2017). A associação do quadro renal com a sepse contribui para a alta mortalidade, possibilidade sempre presente, especialmente em piometra fechada (HAGMAN, 2016; FIGUEIREDO et al., 2017; JITPEAN et al., 2017).

O diagnóstico desta enfermidade é confirmado por meio da avaliação dos achados clínicos e dos sinais apresentados pela cadela, sendo a secreção vulvar mucopurulenta relevante para o diagnóstico de fêmeas que apresentam piometra com a cérvix aberta (HAGMAN, 2018). As fêmeas com piometra de cérvix fechada, devido ao aumento de volume abdominal pelo acúmulo de secreções no lúmen uterino, é de extrema importância a associação com exames de imagem para o estabelecimento do diagnóstico e prognóstico (JITPEAN et al., 2017; HAGMAN, 2018).

Os exames de imagens são os que mais corroboram para um diagnóstico preciso da piometra, dentre eles estão a radiografia que permite verificar apenas a distensão da parede uterina, e a ultrassonografia que é o método mais utilizado e considerado o mais importante para o diagnóstico de piometra, pois possibilita evidenciar a espessura da parede uterina, conteúdo presente no útero, tamanho do lúmen e posição uterina (NELSO;

COUTO, 2015).

Além dos exames de imagem, são necessários exames laboratoriais como hemograma, ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina amino transferase e albumina, devido ao comprometimento sistêmico, além de auxiliar na evolução clínica no pós-operatório (GARCIA FILHO et al., 2012). A leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda é uma alteração frequentemente encontrada na contagem diferencial de células brancas de fêmeas acometidas pela piometra (HAGMAN, 2016). Quando ocorre neutropenia o prognóstico pode ser de reservado a ruim (HAGMAN, 2018). A anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia ocorre nos casos mais crônicos e é decorrente da diminuição da eritropoiese pela toxicidade na medula óssea e pela perda de eritrócitos para a luz uterina (HAGMAN, 2004). Nos achados de bioquímica sérica podemos observar hiperglobulinemia e azotemia. A azotemia renal é secundária a glomerulonefrite decorrente de deposição de imunocomplexos na membrana basal glomerular (SANT'ANNA et al., 2014). A lesão glomerular pode culminar em proteinúria, tornando este achado um preditor de doença renal e, portanto, do prognóstico (JERICÓ et al., 2015). Independente da azotemia estar ou não presente, a filtração glomerular está diminuída na piometra sugerindo que a doença afete a perfusão renal (HAGMAN, 2018).

A função hepática alterada é menos frequente do que a alteração da função renal em fêmeas com piometra. Nesta afecção, níveis aumentados de fosfatase alcalina, alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina total, colesterol e triglicerídios indicam dano hepatocelular em resposta a toxemia ou diminuição da circulação hepática por desidratação (HAGMAN, 2018). Ainda, pode ocorrer hipoalbuminemia (perda pela urina), hiperproteinemia (resposta à desidratação) e hiperglobulinemia (estímulo antigênico crônico) (JERICÒ et al, 2015).

Coagulopatias, como a coagulação intravascular disseminada (CID) podem ocorrer em pacientes com quadro clínico grave, como no caso da piometra (HAGMAN, 2018). No coagulograma, a CID é caracterizada por aumento no tempo de sangramento de mucosa oral, no tempo de protrombina e no tempo de tromboplastina parcial ativada, ainda com importante redução nos valores da contagem plaquetária (GONÇALVES, 2010).

A diferenciação entre piometra e hiperplasia endometrial cística (HEC) é um desafio devido às características histológicas semelhantes apresentadas por ambas alterações (DE BOSSCHERE et al., 2001). Contudo, um animal com piometra apresenta

elevada resposta inflamatória, deformação cística das glândulas endometriais e proliferação de fibroblastos, o que caracteriza a gravidade do quadro. O mesmo não ocorre na HEC em que a principal alteração é a deformação cística da glândula sem a presença de processo inflamatório, acompanhada por um fluido uterino estéril, sendo definido como mucometra ou hidrometra (HAGMAN, 2004).

Dow (1959) propôs uma classificação baseando-se nas características histopatológicas da parede uterina para diferenciar HEC de piometra em quatro categorias. Estas classificações estão descritas como: I - HEC não complicada apresenta no histopatológico hipertrofia glandular sem reação inflamatória; II - HEC complicada com presença de infiltrado de células plasmocíticas difusa no estroma, criptas e zonas subepiteliais do endométrio; III - HEC endometrite aguda com visualização de infiltrado polimorfonuclear nas criptas e camadas profundas do endométrio com abscessos ao redor das glândulas e inflamação do miométrio e; IV - Endometrite crônica caracterizada por atrofia ou hipertrofia do miométrio e fibrose, poucas glândulas endometriais com presença de infiltrado plasmocítico/linfocítico

O tratamento mais comum da piometra é o cirúrgico, sendo indicado para pacientes com doença em estado grave, pacientes idosos sem interesse reprodutivo e casos de piometra de cérvix fechada (SMITH, 2006). Devido a resposta inflamatória sistêmica, associado às endotoxinas, produzidas pela *E. coli*, a fêmea pode apresentar disfunções em múltiplos órgãos, levando a necessidade de estabilização dos pacientes graves, com correção dos desequilíbrios eletrolíticos e acidobásicos previamente ao procedimento cirúrgico associado ao uso de antibioticoterapia (JITPEAN et al., 2017; HAGMAN, 2018).

Existe a possibilidade de realizar o tratamento medicamentoso da piometra, indicado para animais que são destinados à reprodução, cadelas impossibilitadas de passar por um procedimento cirúrgico devido ao risco anestésico, proprietários que visam reduzir o custo do tratamento de piometra e para animais jovens com quadro clínico leve (VERSTEGEN; DHALIWAL; VERSTEGEN-ONCLIN, 2008). As drogas de eleição para o tratamento medicamentoso da piometra são prostaglandinas e antiprogéstágenos (FIENI, 2006).

As prostaglandinas são utilizadas devido ao seu efeito luteolítico, ou seja, promove lise do corpo lúteo e conseqüentemente a diminuição da concentração da progesterona, restabelecendo a contração uterina e abertura da cérvix. Desta maneira, horas após sua administração haverá eliminação do conteúdo uterino com a presença de

secreção vulvar, de início purulenta, evoluindo para mucopurulenta, e por fim serosa. A dose indicada é 0,10- 0,25 mg/kg, via subcutânea, a cada 12/24 horas (FIENI, 2006). Os efeitos colaterais mais comumente observados referentes a administração são diarreias, êmese, sialorréia, hipotermia e depressão com resolução em 1 hora após a aplicação (FIENI, 2006). Os efeitos adversos podem ser evitados pelo uso prévio de metoclopramida, via intravenosa, 15 a 20 minutos antes da aplicação. Alguns pacientes podem apresentar efeitos adversos como taquicardia ventricular, choque e morte, sendo contraindicada para raças braquicefálicas, devido ao risco de desenvolvimento de broncoespasmo (NELSON; COUTO, 2015; HAGMAN, 2018).

Outra possibilidade terapêutica no tratamento da piometra é o aglepristone (Alizin® - Virbac). Ele inibe a ação da progesterona devido ao antagonismo em seus receptores uterinos, permitindo a contração do endométrio e a expulsão do conteúdo luminal (FIENI; TOPIE; GOGNY, 2014). O protocolo utilizado para a administração do aglepristone é injeção subcutânea em face interna do membro posterior na dose de 10 mg/kg nos dias 1, 2, 8 e 15, conforme evolução do quadro clínico. Pode ser associado ao cloprostenol, uma prostaglandina sintética, via subcutânea na dose de 1mg/kg nos dias 3 a 7 dias uma vez ao dia (FIENI, 2006). O prognóstico no tratamento medicamentoso é bom, contudo recomenda-se o acasalamento no ciclo estral seguinte para diminuir o risco de recidivas (HAGMAN, 2018).

## 2.4 HEMOSTASIA

A hemostasia tem por primordial função a manutenção da fluidez sanguínea, permitindo sua caracterização como um líquido cuja viscosidade é variável. A fluidez sanguínea proporciona um adequado fluxo sanguíneo pelos leitos vasculares possibilitando o carreamento de substratos e catabólitos para o adequado funcionamento celular e orgânico (GONÇALVES, 2010). A hemostasia é um processo fisiológico regulado que leva à formação do coágulo de fibrina-plaquetas no local do vaso sanguíneo onde ocorreu a lesão, envolve interações dinâmicas entre os vasos, fatores de coagulação, plaquetas e sistema fibrinolítico. De modo ideal, o coágulo de fibrina-plaquetas deve ser suficientemente grande para que seja limitada a perda de sangue da pelos vasos, mas

pequeno o bastante para que seja permitida a perfusão tecidual adequada (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

Didaticamente a hemostasia pode ser dividida em três fases: primária, secundária e fibrinólise, entretanto deve-se ressaltar que os três processos são inter-relacionados.

#### **2.4.1 Hemostasia primária**

O início da hemostasia primária depende da ação de três fatores: parede vascular, plaquetas e o Fator de Von Willebrand.

Imediatamente após a lesão vascular, ocorre vasoconstrição reflexa local, que é subsequentemente mantida por produtos liberados das plaquetas ativadas, tecidos lesionados, e pela cascata da coagulação. As plaquetas interagem rapidamente com o local da lesão, formando o tampão hemostático primário (NELSON; COUTO, 2015).

Os vasos sanguíneos possuem atividades antitrombóticas e propriedades pró-trombóticas. As células endoteliais e os megacariócitos produzem o fator de Von Willebrand. Este fator é necessário para a adesão plaquetária e funciona como transportador do fator VIII na circulação sanguínea (CARLOS, 2017). O fator de VonWillebrand fica armazenado em grânulos chamados corpos de Weibel-Palade. As células endoteliais e os megacariócitos expressam receptores para a trombina, que uma vez ligada, desencadeia uma série de eventos pró-coagulantes e pró-inflamatórios que culminam na liberação do fator dos grânulos (ZACHARY, 2013).

As plaquetas são pequenos fragmentos citoplasmáticos, anucleados, derivados de células da medula óssea denominadas de megacariócitos (THRALL, 2015). Na formação das plaquetas, minúsculas porções do citoplasma separam-se das regiões periféricas dos megacariócitos através de grandes canais de demarcação plaquetária. Setenta por cento das plaquetas estão sempre circulando e 30% estão concentradas no baço (CASTRO et al., 2006). A produção das plaquetas, chamada de trombopoiese, é induzida pela trombopoietina, que estimula todos os estágios de megacariocitopoiese e maturação. À medida que os megacariócitos aumentam em número e em tamanho, o mesmo ocorre com as plaquetas. A produção de plaquetas também é estimulada, em menor grau, pela interleucina-6, pela interleucina-11 e pela eritropoietina. A síntese de trombopoietina ocorre no fígado, na medula óssea e em numerosos outros locais e parece ser regulada de

forma descendente pela massa de plaquetas (DALMOLIN, 2010). As plaquetas aparecem na circulação entre 3 e 5 dias após o estímulo da produção e permanecem na circulação até 8 dias.

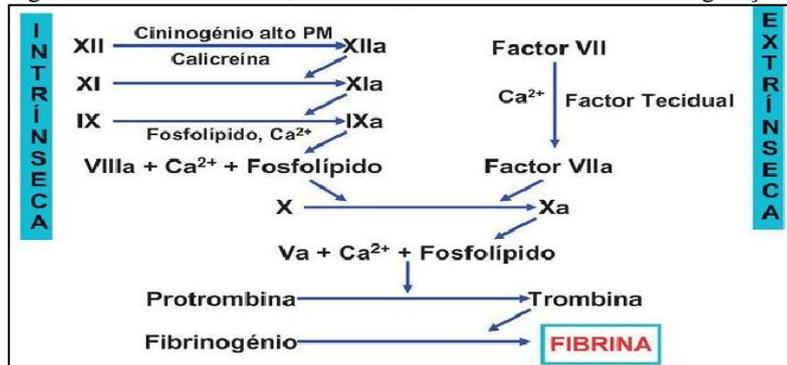
As plaquetas participam ativamente no processo de reparo das feridas, sendo as primeiras células presentes no local do trauma (LOPES et al., 2007). As plaquetas desempenham funções hemostáticas e não hemostáticas. Em relação às funções não hemostáticas as plaquetas são importantes na inflamação e na cicatrização de feridas. Elas interagem com leucócitos e liberam aminas vasoativas, citocinas, mitógenos e fatores de crescimento. Os fatores de crescimento contidos nos  $\alpha$ -grânulos plaquetários promovem quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular, neovascularização e deposição de matriz extracelular. Entretanto, a principal função das plaquetas é a hemostática que consiste em auxiliar na reparação da lesão vascular e impedir a ocorrência de hemorragia por participação na formação do tampão hemostático primário (ZHANG et al., 2007).

O valor normal de plaquetas para cães e gatos está entre 200.000 a 500.000 plaquetas/ $\mu$  de sangue (BAKER, 2007). Valores menores que 100.000 plaquetas/ $\mu$ L indicam claramente uma trombocitopenia, sendo que até 50.000 plaquetas/ $\mu$ L é suficiente para prevenir uma hemorragia e com 30.000 plaquetas/ $\mu$ L ou menos espera-se observar inclusive hemorragia espontânea (LOPES et al., 2007).

#### **2.4.2 Hemostasia secundária**

A hemostasia secundária foi conceitualmente subdividida em três vias, devido à descoberta dos diferentes fatores de coagulação que compõe o sistema hemostático, sendo elas as vias intrínseca, extrínseca e comum (Figura 1) (GONÇALVES, 2014).

Figura 1 – Vias extrínseca, intrínseca e comum da cascata de coagulação.



Fonte adaptada: THRALL, 2015

A hemostasia secundária compreende uma série de reações em cascata, cujo resultado é a formação de fibrina a partir do fibrinogênio conferindo estabilidade ao coágulo (MOROZ, 2008). A ativação dos fatores de coagulação em presença de quantidade suficiente de  $Ca$  iônico promove a conversão da protrombina em trombina. A trombina converte o fibrinogênio em monômeros de fibrina, que envolvem as plaquetas, as células sanguíneas e o plasma, para formar o coágulo caracterizando a fase secundária da coagulação (VITAL; SOBREIRA; CALAZANS, 2014).

A via extrínseca é considerada a principal via para a formação da fibrina *in vivo*. Os componentes desta via incluem o fator tissular (FT, fator III), o fator de inibição do fator tissular (IFT) e o fator plasmático (VII). Através desta via há formação da fibrina (LOPES et al., 2007).

A via intrínseca é ativada pelo contato do Fator XII com uma superfície negativamente carregada, geralmente o colágeno. Substâncias como a caliceína, precaliceína, e cininogênio de alto peso molecular propagam a coagulação. O Fator XIII (fator estabilizador da fibrina) forma ligações covalentes entre os monômeros da fibrina, tornando-a insolúvel e estabilizada. Ao final deste processo obtém-se uma malha de polímeros de fibrina sobre o alicerce formado pelo endotélio lesado e pelo plug plaquetário (OLIVEIRA; MARQUES JÚNIOR; NEVES, 2003).

A via comum é a via final da coagulação. Neste estágio o fator Xa<sup>2</sup> em associação com Va na superfície de fosfolípidos e na presença de cálcio (complexo trombina) converte a protrombina (fator II) em trombina (fator IIa). A trombina hidroliza o fibrinogênio em fibrina (LOPES et al., 2007).

Além da formação de fibrina, a trombina tem ação de ativar as plaquetas através da liberação do FvW e da tromboxana A<sub>2</sub>, auxilia na manutenção do tônus vascular, estimula o crescimento celular, ativa a liberação de leucotrienos para migração celular e

quimiotaxia, ativa os pró-fatores e fatores da coagulação, ativa o sistema fibrinolítico ao auxiliar na degradação de fatores V, XIII e XI, estimula as células endoteliais a liberarem endotelinas e fator V (SANTOS et al., 2015). A relação dos fatores envolvidos na cascata de coagulação está presente no Quadro 1

Quadro 1 – Fatores envolvidos na cascata de coagulação.

Fator	Nome	Meia Vida Plasmática
I	Fibrinogênio	1,5-6,3 dias
II	Protrombina	2,1-4,4 dias
III	Tromboplastina tecidual	
IV	Cálcio	
V	Proacelerina	15-24 horas
VII	Proconvertina	1-6 horas
VIII	Fator anti-hemofílico	2,9 dias
IX	Fator de Christmas	24 horas
X	Fator de Stuart	32-48 horas
XI	Antecedente de tromboplastina do plasma	30 horas
XII	Fator de Hageman	18- 52 horas
XIII	Estabilizador de fibrina	4,7-7 dias
Precalicrofina	Fator de Fletcher	35 horas
Cininogênio de alto peso molecular	Fator de Fitzgerald	6,5 dias

Fonte: modificado de BAKER, 2007.

### 2.4.3 Fibrinólise

A fibrinólise ou hemostasia terciária é o estágio final do processo de reparo após a lesão dos vasos sanguíneos sendo muito importante para o restabelecimento do fluxo sanguíneo ao desfazer o coágulo. A hemostasia terciária é ativada na mesma ocasião da

coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas (EVANGELISTA et al., 2010).

Uma vez iniciada a formação do tampão hemostático em sítios de lesão vascular, cabe ao sistema fibrinolítico manter o processo de modificação da viscosidade sanguínea isoladamente ao local de dano endotelial. O isolamento da fibrinólise previne a ocorrência de diáteses hemorrágicas sistêmicas e permite a evolução do processo de reparação tecidual pelo organismo (GUYTON; HALL, 2006). Ainda, o sistema fibrinolítico é o principal mecanismo endógeno para a proteção contra trombos e conseqüentemente contra obstruções vasculares (tromboembolismos) (MOROZ, 2008).

A fragmentação da fibrina resulta da ação proteolítica da plasmina que existe no organismo sob a forma de um precursor inativo, o plasminogênio. Este é produzido pelo fígado, eosinófilos e pelos rins, apresentando meia vida de 2,2 dias. Por ação de ativadores endógenos ou exógenos ocorre alteração na estrutura molecular do plasminogênio que se converte em plasmina, cuja ação é maior no substrato da fibrina e menor no fibrinogênio. Havendo cisão da fibrina e do fibrinogênio em vários locais de suas moléculas, resulta em uma série de polipeptídios e peptídeos conhecidos como produtos de degradação do fibrinogênio e da fibrina (EVANGELISTA et al., 2010). Um desses produtos, a antitrombina VI, bloqueia a ação da trombina tendo, portanto, propriedades anticoagulantes (LANGER; WOLOSKER, 2006). Outras moléculas proteicas anticoagulantes expressas nas membranas endoteliais como a trombosmodulina e a inibidora da via do fator tecidual, evitam a síntese de coágulos distantes do leito agredido (VINE, 2009). Os produtos da degradação da fibrina formados pela ação da plasmina sobre a fibrina são removidos pelos macrófagos (EVANGELISTA et al., 2010).

## 2.5 PERFIL HEMOSTÁTICO

Os exames laboratoriais para avaliação da hemostasia devem ser interpretados junto à anamnese e exame clínico do paciente. A contagem de plaquetas permite avaliar a hemostasia primária, já que as plaquetas têm papel fundamental na fase inicial do mecanismo de coagulação. A hemostasia secundária pode ser avaliada mediante obtenção do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), tempo de protrombina (TP), e dosagem de fibrinogênio. Para a avaliação da fibrinólise recomenda-se a determinação de

produtos de degradação de fibrina como os dímeros-D. Estas provas avaliam a via intrínseca, extrínseca e a via comum da coagulação (SANTOS et al., 2015).

Na Medicina Veterinária a determinação do perfil hemostático é utilizada para fins de diagnóstico e terapêutico. Em animais hepatopatas os fatores de coagulação estarão diminuídos e os tempos de coagulação estarão aumentados nas fases iniciais da doença (MOROZ, 2008).

### **2.5.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa)**

O TTPa mede o tempo de ocorrência da coagulação após a adição de fosfolipídios e cálcio ao plasma, permite avaliar a integridade das vias intrínseca e comum da coagulação, isto é, dos fatores V, VIII, IX, X, XI, XII, protrombina, fibrinogênio, pré-caliceína e cininogênio de alto peso molecular (GONÇALVES et al., 2015). Este teste mede a deficiência dos fatores quando alcançam valores abaixo de 30% (MOROZ, 2008).

Esperam-se valores de TTPa aumentados em pacientes hemofílicos que apresentem deficiência do fator XII, coagulação intravascular disseminada (CIVD), sob efeito de cumarínicos e na doença de Von Willebrand (LOPES et al., 2005).

### **2.5.2 Tempo de Tromboplastina (TP)**

O TP mede o tempo de ocorrência da coagulação após a adição de tromboplastina tecidual e cálcio ao plasma. O TP presta-se a avaliar a integridade das vias extrínseca e comum, isto é, dos fatores V, VII, X, protrombina e fibrinogênio (REZENDE, 2010). Estará aumentado quando houver anormalidades nos fatores VII, X, II e I. O prolongamento do TP pode estar associado a doenças hepáticas, antagonistas da vitamina k e CID.

### 2.5.3 Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado, fator I cuja concentração plasmática eleva-se sob a ação estimuladora das interleucinas (IL-1 e 6) e do fator de necrose tecidual liberado pelo processo inflamatório (MEINERZ et al., 2012). Segundo (KANEKO et al., 2008) durante o processo de inflamação aguda a concentração plasmática desta substância aumenta por vários dias, atingindo um pico entre o quinto e sétimo dia. Não sofre alteração perceptível em virtude de fatores como a idade, sexo, exercício ou hemorragia, mas pode ser afetada por fatores inflamatórios, dessa forma a fibrinogênia vem acompanhada de leucocitose com desvio à esquerda.

As concentrações de fibrinogênio variam de 0,5 a 3 g/L em cães e gatos normais. A hipofibrinogenemia ocorre principalmente pelo excessivo consumo na CID, mas pode ser encontrada na deficiência de fator I e em doença hepática avançada (DAY, 2007).

### **3 HIPÓTESE**

A alteração nos fatores de coagulação (produção e consumo) está relacionada ao grau de alteração histológica uterina.

#### **4 OBJETIVO**

O objetivo deste experimento foi realizar a caracterização histopatológica da piometra em cadelas e verificar a relação com os fatores de coagulação: tempo de tromboplastina (TP), tempo de trombloplastina parcial ativado (TTPa), fibrinogênio e plaquetas nas cadelas com piometra.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido com fêmeas selecionadas a partir da rotina clínica da Coordenadoria de Defesa da Vida Animal (Codevida), na cidade de Santos, no período de julho de 2017 a março de 2019. tesescoagulopatias em coagu

### 5.1 ANIMAIS E CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram selecionadas vinte e sete fêmeas da espécie canina, com idade entre 7 meses e 16 anos, de raças e portes variados e livres de afecções intercorrentes. A fêmeas foram divididas em dois grupos: Grupo Diestro, composto por 12 fêmeas e Grupo Piometra composto por 15 fêmeas. Para o grupo diestro foram selecionadas fêmeas com diagnóstico colpocitológico e submetidas à castração eletiva. No grupo piometra as fêmeas foram diagnosticadas com piometra por meio de exame clínico e ultrassonográfico e submetidas à castração terapêutica por meio de ovário hysterectomia (OSH).

### 5.2 DETERMINAÇÃO DA FASE DO CICLO ESTRAL

Todas as fêmeas foram submetidas ao exame colpocitológico para determinação da fase do ciclo estral. A colheita da amostra se deu pela introdução de swab no interior da vagina e colheita das células por esfoliação da mucosa da região dorsal do canal vaginal. Em seguida as células foram depositadas em lâmina de microscopia e coradas com corante Panótico®, conforme orientação do fabricante. As lâminas foram avaliadas no microscópio óptico Nikon® modelo E-200, com aumento de 40x.

O diestro foi caracterizado pela presença de células intermediárias em predominância, algumas agregadas em conformação de cacho de uva, presença de células de metaestro e neutrófilos (VIEIRA et al., 2013)

### 5.3 ANÁLISE HEMATOLÓGICA

Para as análises hematológicas, as amostras foram colhidas por venopunção da veia jugular, antes do procedimento cirúrgico. Foi padronizado o uso de seringas de 5mL e agulha de calibre 25x7. Foram coletados 5mL de sangue, o qual foi dividido nos tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para realização de hemograma, tubo contendo citrato de sódio para dosagens dos fatores de coagulação e tubo seco para dosagem bioquímica (ureia, creatinina, alanina amino transferase e fosfatase alcalina). Tanto o hemograma quanto as análises bioquímicas foram processadas no mesmo dia da colheita das amostras.

#### 5.3.1 Hemograma

Para o hemograma, foi utilizado entre 0,5 mL e 2 mL de sangue. As amostras foram devidamente homogeneizadas após a coleta, para evitar a formação de coágulos e para garantir a uniformidade na distribuição dos componentes sanguíneos. Para as análises foi utilizado o analisador hematológico veterinário semiautomático Exigo® da Boule® (Suécia), enquanto a proteína plasmática foi dosada por refratometria, a partir do plasma sanguíneo, obtido após a centrifugação da amostra a 3000rpm por 5 minutos em centrífuga de microhematócrito Fanem® modelo 2410 (Brasil). As amostras com valores superiores ou inferiores ao intervalo de referência foram repetidas a fim de confirmar o resultado.

A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada a partir da confecção de extensão sanguínea corada pelo método de coloração rápida (Panótico®) e avaliada em microscópio óptico Nikon® modelo E-200. Concomitantemente, foi avaliada a morfologia das hemácias, os leucócitos, as plaquetas e realizada pesquisa de hematozoários.

### 5.3.2 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas, estabeleceu-se como função renal os exames de creatinina e ureia e, como função hepática os exames de alanina amino transferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA). Para tais análises, as amostras foram acondicionadas em tubo seco contendo aproximadamente 2mL de sangue e, após a formação do coágulo, foram centrifugadas a 3.000rpm por 5 minutos em centrífuga de tubo Combate da CELM® (Brasil). Posteriormente, o soro foi transferido para um tubo de ensaio de vidro, devidamente identificado e conservado em temperatura de 2°C a 8°C, até o momento em que seriam processados no prazo máximo de 15 dias

As análises bioquímicas de função renal e hepática foram realizadas em aparelho de bioquímica úmida semiautomática SB-190 da CELM® (Brasil). Para a mensuração de tais funções, utilizou-se reagentes comerciais da marca Labtest®. As amostras com valores superiores ou inferiores ao intervalo de referência foram repetidas a fim de confirmar o resultado.

### 5.3.3 Análise dos Fatores de Coagulação

Foram utilizados até 2,5 mL de sangue venoso acondicionados em tubos de citrato de sódio a 3,2% para a avaliação dos fatores de coagulação. Imediatamente após a coleta, a amostra foi centrifugada a 2.000rpm por 15 minutos e o plasma foi congelado a -20°C em microtubo para posterior análise. As determinações de tempo de protrombina (TP), tempo de trombolastina parcial ativada (TTPa) e fibrinogênio foram realizadas utilizando-se reagentes comerciais da marca WAMA Diagnóstica® em coagulômetro CLOtimer - DRAKE® (Brasil). As amostras com valores superiores ou inferiores ao intervalo de referência foram repetidas a fim de confirmar o resultado.

Para mensurar os valores de TP, foram pipetados 50 µL do plasma em uma cubeta com barra magnética e incubado por dois minutos a 37°C. Em seguida, 100 µL do extrato liofilizado de tromboplastina de cérebro de coelho, cloreto de cálcio e tampão pré-aquecido a 37°C foi instantaneamente adicionado, enquanto o coagulômetro acionava o cronômetro e registrava o tempo gasto para formação de coágulo através da ativação

magnética da barra inclusa na cubeta.

Para mensurar os valores de TTPa, foram pipetados 50  $\mu$ L do plasma em uma cubeta com barra magnética, adicionados 50  $\mu$ L de cefalina e incubados por dois minutos a 37°C. Após, 50  $\mu$ L do cloreto de cálcio pré-aquecido a 37°C foi instantaneamente adicionado, enquanto o coagulômetro acionava o cronômetro e registrava o tempo gasto para formação de coágulo através da ativação magnética da barra inclusa na cubeta.

Para mensurar os valores de fibrinogênio, foram pipetados 100 $\mu$ L do plasma diluído em proporção de 1:10 no tampão imidazol em uma cubeta com barra magnética e incubado por quatro minutos a 37°C. Após, 50  $\mu$ L do extrato liofilizado de trombina bovina pré-aquecido a 37°C foi instantaneamente adicionado, enquanto o coagulômetro acionava o cronômetro e registrava o tempo gasto para formação de coágulo através da ativação magnética da barra inclusa na cubeta com resultado expresso em mg/dL.

#### 5.4 EXAME HISTOPATOLÓGICO DO ÚTERO

Imediatamente após o procedimento cirúrgico, foram coletados três fragmentos medindo entre 3cm e 5cm provenientes da região crânio medial do corpo do útero e de ambos os cornos uterinos, para avaliação histológica das camadas uterinas (mucosa, muscular e serosa). Os fragmentos foram lavados com solução fisiológica 0,9% e fixados em formaldeído a 10% em frascos devidamente identificados e encaminhados ao serviço de histopatologia, Histocell®. Após o período de fixação, os fragmentos foram inclusos em parafina, seccionados a 5 $\mu$ m e em seguida corados pela coloração Hematoxilina e Eosina (JUNQUEIRA et al .,1995). Os cortes histológicos foram avaliados no microscópio óptico Nikon® modelo E-200, nos aumentos de 100x, 400x e 1000x.

A classificação histopatológica das alterações promovidas pela piometra no útero seguiu o critério de avaliação adaptada de Dow (1959), conforme apresentado no Quadro 2.

Quadro 2 – Classificação histopatológicas de útero de cadela com piometra de acordo com o processo inflamatório, aspectos e alterações arquiteturais. Santos, 2019.

<b>GRAU</b>	<b>Alteração</b>	<b>Processo inflamatório</b>	<b>Tipo celular do processo inflamatório</b>	<b>Características</b>
<b>GRAU I (leve)</b>	Hiperplasia leve	Infiltrado inflamatório discreto	Linfoplasmocítico e neutrófilos	Infiltrado inflamatório em mucosa
<b>GRAU II (moderado)</b>	Dilatação cística de glândulas endometriais	Infiltrado inflamatório difuso e acentuado	Neutrófilos e macrófagos	Congestão e hemorragia difusa
<b>GRAU III (acentuado)</b>	Dilatação cística de glândulas endometriais	Processo inflamatório amorfo	Linfoplasmocítico e neutrófilos	Infiltrado inflamatório com focos hemorrágicos.

Fonte: adaptado de DOW, C. (1959)

As alterações histológicas foram classificadas de acordo com a presença ou ausência de: dilatação cística das glândulas endometriais, hiperplasia leve e acentuada, processo inflamatório composto por polimorfonucleares/eosinófilos, processo inflamatório difuso e acentuado, processo inflamatório leve, processo inflamatório linfoplasmocítico, com presença de neutrófilos e macrófagos, focos hemorrágicos associado ao processo inflamatório e presença de congestão e hemorragia no grupos GD e GP.

## 5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi verificada a normalidade da distribuição dos resultados, utilizando-se do teste de Kolmogorov-Smirnov, e sua homoscedasticidade, utilizando-se do teste F (para dados que apresentaram distribuição normal) ou do teste de Lavene (para dados que não apresentaram distribuição normal). Para a avaliação das diferenças entre as médias dos resultados obtidos, foram feitos o teste t (para dados com distribuição normal) ou de Mann-Whitney (para dados que não apresentaram distribuição normal). A avaliação das frequências, para dados categóricos, foi realizada utilizando-se do Teste Exato de Fisher. Para todos os resultados, foram consideradas significantes as análises que apresentarem  $p < 5$ .

## 6 RESULTADOS

No presente experimento, os animais avaliados no grupo piometra apresentaram idade superior aos do grupo diestro, conforme tabela 1.

Tabela 1 – Média e desvio padrão da idade dos animais dos grupos diestro e piometra. Santos - 2019

Parâmetro	Grupo			p*	Total
	N	Diestro	Piometra		
		<b>12</b>	<b>15</b>		<b>27</b>
<b>Idade (anos)</b>	<b>Média</b>	4,63 <sup>a</sup>	10,07 <sup>b</sup>	< 0,001	7,65
	<b>(± D.P.)</b>	(± 3,57)	(± 2,96)		(± 4,21)

\* Resultados com letras divergentes em uma mesma linha indicam diferença entre os grupos, utilizando-se do teste t

A análise das variáveis hematológicas demonstrou que o grupo piometra apresentou valores de concentração de hemácias ( $5,08 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 1,64$ ), hematócrito (31,47 %  $\pm 8,20$ ) e hemoglobina (10,48 g/dL  $\pm 3,45$ ) abaixo dos valores de referência (Hemácias:  $5,5 \times 10^6/\mu\text{L}$  a  $8,5 \times 10^6/\mu\text{L}$ ; Hematócrito: 37 % a 55 % e Hemoglobina: 12 g/dL a 18g/dL), diferindo do grupo diestro (hemácia:  $6,40 \times 10^6/\mu\text{L} \pm 1,15$ ; hematócrito: 47.017%  $\pm 4,78$ ; hemoglobina: 15,66 g/dL  $\pm 1,63$ ) que apresentou as mesmas variáveis dentro do intervalo de referência (Tabela 2).

A concentração de proteína total no plasma foi maior no grupo piometra (8,18 g/dL  $\pm 0,84$ ) em relação ao grupo diestro (6,99 g/dL  $\pm 0,77$ ), tendo o grupo piometra valores superiores ao intervalo normal (6,0 a 8,0 mg/dl) (Tabela 2).

A contagem de leucócitos totais apresentou valores superiores ao intervalo de referência ( $6000 \times 10^3/\mu\text{L}$  a  $17.000 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) no grupo piometra ( $37.920 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 16.756,67$ ), enquanto o grupo diestro ( $8.991,67 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 1.993,38$ ) apresentou valores dentro dos parâmetros normais (Tabela 2).

A contagem de plaquetas não diferiu entre os grupos piometra ( $260.600 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 151.203,17$ ) e diestro ( $320.250 \times 10^3/\mu\text{L} \pm 79.713,36$ ), se mantendo dentro do intervalo de referência (200.000 a  $500.000 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 – Média e desvio padrão das variáveis do hemograma dos grupos diestro e piometra. Santos - 2019

Parâmetro	Grupo			p*	Total
	N	Diestro	Piometra		
<b>Hemácias (x 10<sup>6</sup>/μL)</b>	N	12	15		27
	Média	N 6,40 <sup>a</sup>	↓ 5,08 <sup>b</sup>	0,028	5,68
	(± D.P.)	(± 1,15)	(± 1,64)		(± 1,56)
<b>Hematócrito (%)</b>	N	12	15		27
	Média	N 47,17 <sup>a</sup>	↓ 31,47 <sup>b</sup>	< 0,001	38,44
	(± D.P.)	(± 4,78)	(± 8,20)		(± 10,45)
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	N	12	15		27
	Média	N 15,66 <sup>a</sup>	↓ 10,48 <sup>b</sup>	< 0,001	12,78
	(± D.P.)	(± 1,63)	(± 3,45)		(± 3,80)
<b>Proteína total (g/dL)</b>	N	12	15		27
	Média	N 6,99 <sup>a</sup>	↑ 8,18 <sup>b</sup>	0,001	7,65
	(± D.P.)	(± 0,77)	(± 0,84)		(± 1,00)
<b>Leucócitos (x 10<sup>3</sup>/μL)</b>	N	12	15		27
	Média	N 8.991,67 <sup>a</sup>	↑ 37.920,00 <sup>b</sup>	< 0,001	25.062,96
	(± D.P.)	(± 1993,38)	(± 16756,67)		(± 19168,99)
<b>Plaquetas (plaquetas/μL)</b>	N	12	15		27
	Média	N 320.250,00	N 260.600,00	0,223	287.111,11
	(± D.P.)	(± 79713,36)	(± 151203,17)		(± 124586,19)

\* Resultados com letras divergentes em uma mesma linha indicam diferença entre os grupos, utilizando-se do teste t.  
N: Normal / ↑ aumento e ↓ diminuição

A análise da bioquímica sérica ficou dentro do intervalo fisiológico nos grupos diestro e piometra para as variáveis: ureia (39,50 mg/dl ± 12,59; 59,73 mg/dl ± 42,11, respectivamente), creatinina (0,95 mg/dL e 1,10 mg/dL, respectivamente) e ALT (60,38 U/L ± 35,19; 34,33 U/L ± 33,21, respectivamente) não diferindo entre os grupos experimentais. A FA foi superior ao limite fisiológico no grupo piometra (321,53 U/L ± 273,17), diferindo do grupo diestro (95,13 U/L ± 62,39), que se manteve dentro do intervalo fisiológico (Tabela 3).

Tabela 3 – Média e desvio padrão das análises de função renal e função hepática dos grupos diestro e piometra. Santos - 2019

Parâmetro	Grupo			p*	Total
	N	Diestro	Piometra		
	N	12	15		27
Ureia (mg/dL)	Média	N 39,50	N 59,73	0,122	50,74
	(± D.P.)	(± 12,59)	(± 42,11)		(± 33,57)
	N	12	15		27
Creatinina (mg/dL)	Mediana	N 0,95	N 1,10	0,193	1,10
	(mín-máx)	(0,70-1,60)	(0,60-4,80)		(0,60-4,80)
	N	8	15		23
ALT (U/L)	Média	N 60,38	N 34,33	0,094	43,39
	(± D.P.)	(± 35,19)	(± 33,21)		(± 35,45)
	N	8	15		23
FA (U/L)	Média	N 95,13 <sup>a</sup>	↑ 321,53 <sup>b</sup>	0,033	242,78
	(± D.P.)	(± 62,39)	(± 273,17)		(± 246,74)

\* Resultados com letras divergentes em uma mesma linha indicam diferença entre os grupos, utilizando-se do teste t ou do teste de Mann-Whitney (para creatinina).

N: Normal / ↑ aumento e ↓ diminuição

Os fatores de coagulação avaliados não diferiram entre os grupos diestro (TP: 7,35 ± 0,49 segundos; TTPa: 17,84 ± 5,15 segundos e fibrinogênio 424,33 ± 173,34 mg/dl) e piometra (TP: 7,57±1,15segundos; TTPa: 21,18, ± 8,41 segundos e Fibrinogênio: 368,93 ± 153,68 mg/dl) (Tabela 4). Ainda, o TP e o fibrinogênio mantiveram-se dentro do intervalo de referência em ambos os grupos (TP: 6,4 a 7,4 segundos e Fibrinogênio:100 a 500 mg/dl). Entretanto, o TTPa apresentou média superior ao intervalo normal para a espécie canina nos grupos diestro e piometra (TTPa: 9,0 a 11 segundos).

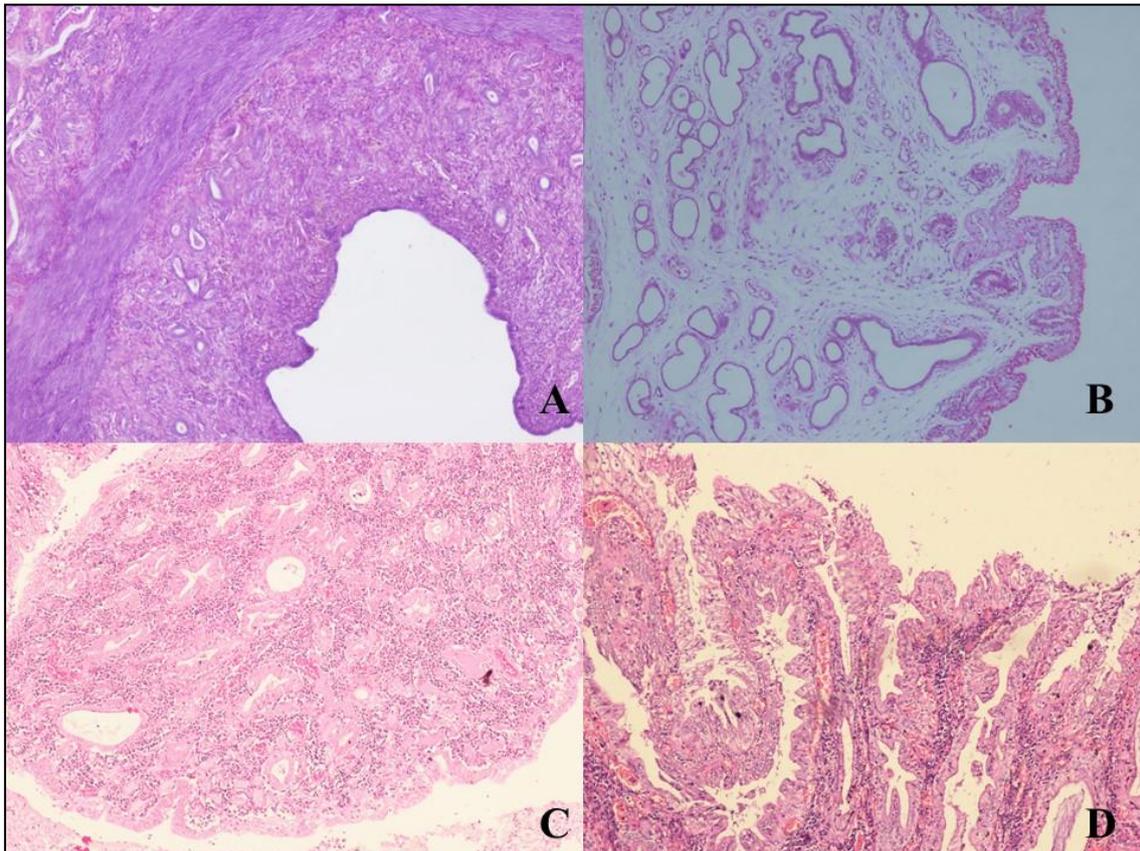
Tabela 4 – Média e desvio padrão dos fatores de coagulação dos grupos diestro e piometra. Santos - 2019

Parâmetro	Grupo			p*	Total
	N	Diestro	Piometra		
	N	12	15		27
TP (segundos)	Média	N 7,35	N 7,57	0,538	7,47
	(± D.P.)	(± 0,49)	(± 1,15)		(± 0,91)
	N	12	15		27
TTPa (segundos)	Média	↑ 17,84	↑ 21,18	0,240	19,70
	(± D.P.)	(± 5,15)	(± 8,41)		(± 7,23)
	N	12	15		27
Fibrinogênio (mg/dL)	Média	N 424,33	N 368,93	0,387	393,56
	(± D.P.)	(± 173,34)	(± 153,68)		(± 161,91)

\*Resultados com letras divergentes em uma mesma linha indicam diferença entre os grupos, utilizando-se do teste t. N: Normal / ↑ aumento e ↓ diminuição

A classificação em diestro e piometra dos cortes histológicos de corno direito, corno esquerdo e corpo uterino seguiram a classificação proposta por Dow (1959) e podem ser visibilizadas na Figura 2.

Figura 2: Cortes histológicos de útero de cadela, aumento 10x. A: Diestro; B Piometra Grau I. C: Piometra Grau II e D: Piometra Grau III. Santos 2019



A classificação histológica, independente do ponto da coleta do fragmento, não diferiu da classificação clínica, mostrando a relação entre estas análises (Tabela 5).

Tabela 5 – Classificação clínica e histopatológica dos fragmentos do corpo uterino, corno direito e corno esquerdo do útero. Santos - 2019

Classificação Histopatológica (corpo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Diestro	9 (100%)	0 (0%)	9
Grau I	3 (75%)	1 (25%)	4
Grau II	0 (0%)	5 (100%)	5
Grau III	0 (0%)	9 (100%)	9
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Classificação Histopatológica (corno direito)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Diestro	9 (100%)	0 (0%)	9
Grau I	2 (50%)	2 (50%)	4
Grau II	1 (12,5%)	7 (87,5%)	8
Grau III	0 (0%)	6 (100%)	6
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Classificação Histopatológica (corno esquerdo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Diestro	9 (100%)	0 (0%)	9
Grau I	3 (75%)	1 (25%)	4
Grau II	0 (0%)	6 (100%)	6
Grau III	0 (0%)	8 (100%)	8
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher:  $p < 0,001$

A detecção de dilatação cística das glândulas endometriais, em qualquer fragmento uterino, indicou Piometra, assim como a não observação indicou Diestro (Tabela 6).

Tabela 6 – Dilatação cística de glândulas endometriais no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

Dilatação cística de glândulas endometriais	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observada	4 (21,10%)	15 (78,90%)	19
Não observada	8 (100%)	0 (0%)	8
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Dilatação cística de glândulas endometriais (corpo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observada	3 (18,80%)	13 (81,20%)	16
Não observada	9 (81,80%)	2 (18,20%)	11
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Dilatação cística de glândulas endometriais (corno direito)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observada	4 (22,20%)	14 (77,80%)	18
Não observada	8 (88,90%)	1 (11,10%)	9
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Dilatação cística de glândulas endometriais (corno esquerdo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observada	3 (17,60%)	14 (82,40%)	17
Não observada	9 (90,00%)	1 (10,00%)	10
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher:  $p = 0,001$

Em relação ao processo inflamatório observado na avaliação histopatológica, a observação de processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico, em ao menos um dos três pontos de coleta, indicou Piometra, assim como a não observação, em todos os pontos de coleta, indicou Diestro logo, não poderia haver um resultado (Tabela 7).

Tabela 7 – Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico em todas as amostras, no corpo uterino, no corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019.

<b>Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (10,00%)	9 (90,00%)	10
Não observado	11 (64,70%)	6 (35,30%)	17
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (12,50%)	7 (87,50%)	8
Não observado	11 (57,90%)	8 (42,10%)	19
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (14,30%)	6 (85,70%)	7
Não observado	11 (55,00%)	9 (45,00%)	20
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (16,70%)	5 (83,30%)	6
Não observado	11 (52,40%)	10 (47,60%)	21
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,182

A presença de processo inflamatório difuso e acentuado em qualquer ponto de coleta indicou Piometra, assim como a não observação indicou Diestro (Tabela 8).

Tabela 8 - Processo inflamatório difuso e acentuado no corpo uterino, no corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Processo inflamatório difuso e acentuado</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (13,30%)	13 (86,70%)	15
Não observado	10 (83,30%)	2 (16,70%)	12
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório difuso e acentuado (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (10,00%)	9 (90,00%)	10
Não observado	11 (64,70%)	6 (35,30%)	17
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório difuso e acentuado (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (14,30%)	12 (85,70%)	14
Não observado	10 (76,90%)	3 (23,10%)	13
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório difuso e acentuado (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	1 (8,30%)	11 (91,70%)	12
Não observado	11 (73,30%)	4 (26,70%)	15
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,001

Não houve relação entre a observação de processo inflamatório leve, assim como na presença de infiltrado linfoplasmocítico ou com predomínio de macrófagos e neutrófilos entre os grupos controle diestro e piometra (Tabela 9, 10 e 11).

Tabela 9 - Processo inflamatório leve em corpo uterino, corno direito e corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Processo inflamatório leve (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	5 (55,60%)	4 (44,40%)	9
Não observado	7 (38,90%)	11 (61,10%)	18
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório leve (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	5 (71,40%)	2 (28,60%)	7
Não observado	7 (35,00%)	13 (65,00%)	20
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório leve (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	6 (75,00%)	2 (25,00%)	8
Não observado	6 (31,60%)	13 (68,40%)	19
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,087

Tabela 10 - Processo inflamatório linfoplasmocítico no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Processo inflamatório linfoplasmocítico (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	3 (42,90%)	4 (57,10%)	7
Não observado	9 (45,00%)	11 (55,00%)	20
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório linfoplasmocítico (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	3 (37,50%)	5 (62,50%)	8
Não observado	9 (47,40%)	10 (52,60%)	19
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório linfoplasmocítico (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	3 (30,00%)	7 (70,00%)	10
Não observado	9 (52,90%)	8 (47,10%)	17
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,424

Tabela 11- Processo inflamatório com predomínio de neutrófilos e macrófagos no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

Processo inflamatório com predomínio de neutrófilos e macrófagos (corpo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (25,00%)	3 (75,00%)	4
Não observado	11 (50,00%)	11 (50,00%)	22
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Processo inflamatório com predomínio de neutrófilos e macrófagos (corno direito)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	2 (25,00%)	6 (75,00%)	8
Não observado	10 (52,60%)	9 (47,40%)	19
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Processo inflamatório com predomínio de neutrófilos e macrófagos (corno esquerdo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (20,00%)	4 (80,00%)	5
Não observado	11 (50,00%)	11 (50,0%)	22
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,342

Não houve relação entre a observação de processo inflamatório linfoplasmocítico e neutrofílico entre os grupos diestro e piometra, quando a amostra foi coletada no corpo ou no corno esquerdo. A observação de processo inflamatório linfoplasmocítico e neutrofílico, quando a amostra foi coletada no corno direito, indicou Piometra, assim como a não observação indicou Diestro (Tabela 12).

Tabela 12 - Processo inflamatório linfoplasmocítico e neutrofílico no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Processo inflamatório infoplasmocítico e neutrofílico (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	3 (25,00%)	9 (75,00%)	12
Não observado	9 (60,00%)	6 (40,00%)	15
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório infoplasmocítico e neutrofílico (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (16,70%)	10 (83,30%)	12
Não observado	10 (66,70%)	5 (33,30%)	15
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório infoplasmocítico e neutrofílico (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	4 (40,00%)	6 (60,00%)	10
Não observado	8 (47,10%)	9 (52,90%)	17
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 1

Não houve relação entre a observação de processo inflamatório com focos hemorrágicos ou de congestão e hemorragia difusa/moderada entre os grupos diestro e piometra (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13 - Processo inflamatório com focos hemorrágicos no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Processo inflamatório com focos hemorrágicos (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (22,20%)	7 (77,80%)	9
Não observado	10 (55,60%)	8 (44,40%)	18
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório com focos hemorrágicos (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (22,20%)	7 (77,80%)	9
Não observado	10 (55,60%)	8 (44,40%)	18
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Processo inflamatório com focos hemorrágicos (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	2 (20,00%)	8 (80,00%)	10
Não observado	10 (58,80%)	7 (41,20%)	17
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,107

Tabela 14 – Presença de congestão e hemorragia difusa e moderada no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

<b>Congestão e hemorragia difusa/moderada (corpo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	7 (50,00%)	7 (50,00%)	14
Não observado	5 (38,50%)	8 (61,50%)	13
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Congestão e hemorragia difusa/moderada (corno direito)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	9 (52,90%)	8 (47,10%)	17
Não observado	3 (30,00%)	7 (70,00%)	10
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

<b>Congestão e hemorragia difusa/moderada (corno esquerdo)</b>	<b>Grupo</b>		<b>Total</b>
	<b>Diestro</b>	<b>Piometra</b>	
Observado	8 (50,00%)	8 (50,00%)	16
Não observado	4 (36,40%)	7 (63,60%)	11
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,696

Em qualquer ponto de coleta, a observação de processo inflamatório em mucosa indicou Piometra, assim como a não observação indicou Diestro (Tabela 15).

Tabela 15 - Processo inflamatório de mucosa no corpo uterino, no corno direito e no corno esquerdo do útero, no grupo diestro e grupo piometra. Santos – 2019

Processo inflamatório em mucosa	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (7,70%)	12 (92,30%)	13
Não observado	11 (78,60%)	3 (21,40%)	14
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Processo inflamatório em mucosa (corpo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (9,10%)	10 (90,90%)	11
Não observado	11 (68,80%)	5 (31,20%)	16
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Processo inflamatório em mucosa (corno direito)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (11,10%)	8 (88,90%)	9
Não observado	11 (61,10%)	7 (38,90%)	18
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Processo inflamatório em mucosa (corno esquerdo)	Grupo		Total
	Diestro	Piometra	
Observado	1 (11,10%)	8 (88,90%)	9
Não observado	11 (61,10%)	7 (38,90%)	18
<b>Total</b>	<b>12</b> <b>(44,44%)</b>	<b>15</b> <b>(55,56%)</b>	<b>27</b>

Teste Exato de Fisher: p = 0,020

## 7 DISCUSSÃO

No presente trabalho, assim como descrito na literatura (SMITH, 2006; JITPEAN et al., 2017; HAGMAN, 2018), a idade das fêmeas com piometra é superior à observada nas cadelas em diestro. Sabe-se que a elevada prevalência dessa enfermidade em cadelas idosas pode ser justificada pelo efeito prolongado e cumulativo da estimulação endometrial da progesterona, durante a fase lútea do ciclo estral nesses animais (MARTINS et al., 2002). A progesterona, normalmente, estimula o crescimento e a atividade das glândulas endometriais, resultando no desenvolvimento de hiperplasia endometrial cística em alguns animais. Ao mesmo tempo, este hormônio suprime a atividade miometrial, culminando em acúmulo de secreção das glândulas endometriais na luz uterina, proporcionando um ambiente favorável para o crescimento bacteriano. Contudo, é desconhecido o motivo pelo qual algumas fêmeas desenvolvem a piometra e outras não (NELSON; COUTO, 2015).

No grupo piometra a contagem de hemácias, a concentração de hemoglobina e o hematócrito estavam abaixo dos valores de referência, caracterizando um quadro de anemia, enquanto no grupo diestro, estas variáveis estavam dentro do intervalo de normalidade. Anemia é o termo aplicado a uma síndrome clínica e a um quadro laboratorial caracterizado por diminuição do hematócrito, da concentração de hemoglobina no sangue e da concentração de eritrócitos por unidade de volume, em comparação com parâmetros de sangue periférico de um grupo de referência (OTTENJANN et al., 2006). A interleucina-1 e o fator de necrose tumoral são fatores supressores da medula óssea e ambos são liberados por macrófagos durante os processos inflamatórios e infecciosos que podem ocorrer na piometra. A inibição da eritropoiese, que culmina na anemia, pode ser causada pela diminuição na expressão de receptores na superfície das hemácias (MILLS, 2000). A anemia pode, ainda, estar associada à perda de hemácias para o lúmen uterino por diapedese, além do crescimento bacteriano, que diminui a disponibilidade do ferro (HAGMAN, 2004). A depressão medular prolongada, que pode ser observada na piometra, causa grave prejuízo à eritropoiese, representada pela ausência de células imaturas na circulação sanguínea, indicando anemia não regenerativa (THRALL, 2015).

A concentração de proteína plasmática detectada no hemograma é representada pela albumina e globulinas no plasma sanguíneo. Estas proteínas são responsáveis pela

manutenção da pressão oncótica e regulação da resposta a infecções e processos inflamatórios. Destas, a albumina corresponde à proteína mais abundante, tendo papel no transporte de nutrientes e regulação do pH sanguíneo. As globulinas, divididas em alfa, beta e gama, tem função no transporte de metais e papel na imunidade, juntamente com os leucócitos, atuando na resposta inflamatória (KANEKO et al., 2008; JOHNSTON et al., 2001). A piometra é representada por um processo inflamatório associado à infecção bacteriana, o que estimula a resposta do sistema imunológico além do aumento das proteínas plasmáticas. As globulinas podem ser importantes marcadores da inflamação, pois se elevam na circulação antes mesmo dos leucócitos (KANEKO et al., 2008) este experimento foi observado aumento de proteína plasmática para manutenção da homeostase, demonstrando uma tentativa de limitar o crescimento bacteriano em associação ao sistema imunológico, representado pela leucocitose. O diestro, por se tratar de um processo mediado pela progesterona e sem contaminação bacteriana, apresenta valores, tanto de proteínas plasmáticas, quanto de leucócitos, dentro do intervalo fisiológico.

A piometra apresenta como consequência alterações renais resultantes da perda de néfrons, devido à formação de anticorpos contra antígenos uterinos que culminam em glomerulonefrite imunomediada (PRATSCHKE, 2016). Ainda, o quadro pode ser agravado pela azotemia pré-renal consequente da desidratação, que ocorre pela perda de líquido para o interior do útero associado à lesão renal. A doença renal modifica a reabsorção de líquidos pelos rins, pois há depressão da ação do hormônio antidiurético, resultando em poliúria e polidipsia compensatória e agravamento da desidratação (FIGUEIREDO et al., 2017; JOHNSTON et al., 2001; WANKE e GOBEL, 2006). Clinicamente o animal apresentará aumento na concentração sérica de ureia e creatinina, devido à redução da taxa de filtração glomerular (FIGUEIREDO et al., 2017). Contudo, no presente experimento, as fêmeas avaliadas no grupo piometra apresentaram valor médio de ureia e creatinina dentro do limite da normalidade, não diferindo do grupo diestro. Acredita-se que estes animais tenham sido diagnosticados precocemente, impedindo a intensificação dos danos renais.

Apesar de importantes, as alterações hepáticas são menos evidentes nas cadelas com piometra. Neste estudo foi verificado o aumento da fosfatase alcalina no grupo piometra, indicando dano hepatocelular consequentemente decorrente da toxemia causada pela piometra (HAGMAN, 2018). Ainda, a desidratação diminui a circulação hepática, levando à hipoxia celular e portanto ao dano hepático (SMITH, 2006). Pode-se

observar também níveis elevados de fosfatase alcalina (FA), geralmente com mais frequência em animais anoréxicos ou obesos, devido a hipercolesterolemia atribuída ao catabolismo e à septicemia crônica do sistema imune (SMITH, 2006). O perfil hemostático que inclui contagem de plaquetas, TTPa, TP e fibrinogênio, não foi diferente entre os grupos diestro e piometra. Tanto o TP quanto o TTPa apresentaram valores dentro do intervalo de referência em ambos os grupos. Verificou-se que no grupo piometra houve pequenos danos no fígado devido ao aumento da FA, porém, não houve interferência na produção dos fatores de coagulação. Além disso, pode-se avaliar que não houve dano tecidual hepático importante que pudesse definir aumento do tempo de protrombina, e do tempo de tromboplastina parcial ativado nos grupos diestro e piometra. Contudo, segundo a literatura, a piometra pode resultar em danos menores ou necrose de hepatócitos, porque a lesão hepatocelular intra-hepática resulta em deficiências variáveis de proteínas hemostáticas, prejudicando sua síntese e reduzindo a meia vida pelo aumento do consumo dos fatores de coagulação (DUFORT e MATROS, 2005).

Em um estudo realizado na Eslovênia (TANJA et al., 2006), foi observado que cadelas com piometra apresentaram aumento de TTPa devido às endotoxinas produzidas pelas bactérias presentes, esta alteração que ocorre no caminho da via intrínseca da coagulação é devido a septicemia, endotoxemia, vômito e anorexia. Neste mesmo estudo foi verificado que as vias intrínsecas e extrínsecas foram ativadas imediatamente após a exposição às endotoxinas, no entanto o consumo dos fatores de coagulação foi mais lento. Estes achados vão ao encontro das observações do presente estudo, pois não foi detectado o esgotamento dos fatores de coagulação. Estes achados podem ser devido ao estágio inicial da doença, ou seja, estresse hemostático e inflamatório e danos nos endotélios microvasculares se tornam evidentes mesmo quando as concentrações de E.coli e endotoxina são baixas, contudo as lesões são mais discretas.

Acredita-se que o aumento de TTPa em cadelas em diestro seja relacionado com o aumento de concentração de progesterona, que gera uma reação local no endotélio e do epitélio uterino, alterando a cascata de coagulação (BUNK et al., 2001).

A análise histopatológica condiz com os achados clínicos tanto de cadelas na fase de diestro quanto das cadelas com piometra, também pode-se afirmar no presente estudo que independente dos pontos de coleta (corno uterino esquerdo, corno uterino direito e corpo do útero) o histopatológico não apresentou diferenças quando comparado com os sinais clínicos dos animais. Portanto, é possível afirmar que a presença de processo inflamatório uterino com hiperplasia endometrial cística associado à contaminação

bacteriana, terá alguma alteração clínica que evidenciará a condição uterina. A dilatação cística das glândulas endometriais foi observada nos casos de piometra, em contrapartida os animais em diestro não apresentam estas dilatações. Segundo COCKCROFT (1995), na piometra os segmentos uterinos podem se apresentar de forma não difusa, consequente da ação da progesterona sobre o endométrio, promovendo distensão das glândulas endometriais que podem alcançar as paredes do miométrio, tornando-as edematosas, o que vai ao encontro dos nossos achados histológicos.

A observação de processo inflamatório com presença de processo inflamatório polimorfonuclear/eosinofílico, em ao menos um dos três pontos de coleta, indicou piometra, assim como a não observação, em todos os pontos de coleta, indicou diestro. Estes resultados destacam a importância da coleta dos fragmentos histopatológicos de cadelas com suspeita de piometra em três diferentes porções do útero (corno uterino esquerdo, corno uterino direito e corpo do útero), pois o processo inflamatório pode apresentar-se em diferentes graus com presença de diferentes tipos celulares inflamatórios ao longo do útero, influenciado pela concentração de toxinas bacterianas assim como sua virulência (WEISS et al., 2004).

O processo inflamatório difuso e acentuado foi um indicativo de piometra, diferente daquele discreto encontrado nos dois grupos. A piometra é causada pela invasão do endométrio por bactérias, culminando no desenvolvimento de um processo inflamatório intenso, situação que não é observada no diestro. Em ambos os grupos, o ponto comum foi a elevada concentração de progesterona, que promove efeito imunossupressor, pois, nesta fase, todo o organismo está se preparando para a possível intalação de uma gestação, o que envolve a formação de novos tecidos para estabelecer a relação maternofetal. Acredita-se que o desenvolvimento bacteriano no início da piometra não é controlado pela resposta imunológica, devido à imunossupressão neste período reprodutivo. Ainda, o tipo celular presente na resposta inflamatória é comum tanto no diestro quanto na piometra (neutrófilo, macrófago, linfócito), pela ação da progesterona, que tem a função de proteger o embrião de uma resposta imunológica e inflamatória que inviabilize a gestação. Contudo, a liberação de endotoxinas bacterianas estimula a migração de polimorfonucleares, que foi o diferencial entre piometra e diestro.

Ainda devido à ação da progesterona e à prévia exposição ao estrógeno, há um aumento da vascularização uterina, associado ao processo inflamatório que é comum no diestro, a observação de focos hemorrágicos e congestão vascular não diferenciam piometra e diestro. Porém, a presença de agentes contaminantes no lúmen uterino nas

fêmeas com piometra, promoveu migração de células inflamatórias para a região da mucosa uterina, sendo esta uma característica que diferenciou histologicamente o útero de fêmeas com piometra e fêmeas em diestro.

## 8 CONCLUSÃO

Podemos concluir que:

- Das análises clínicas realizadas, apenas a fosfatase alcalina apresentou valores superiores ao valor de referência nas fêmeas com piometra.
- O histopatológico evidenciou que a observação de processo inflamatório uterino difuso e acentuado, com presença de polimorfonuclear/eosinófilos, e presença de hiperplasia e dilatação endometrial cística são alterações observadas nas fêmeas com piometra apenas.
- Em relação ao perfil hemostático, as variáveis analisadas: TP, TTPa e fibrinogênio, não foram diferentes entre os grupos piometra e diestro, contudo apenas o TTPa foi superior ao intervalo de referência nos grupos avaliados.
- Os achados descritos permitem inferir que o diagnóstico precoce da piometra, associado ao perfil hemostático corroboram para o prognóstico favorável nesta afecção.

## REFERÊNCIAS

- BAKER, D. C. Diagnóstico dos distúrbios hemostáticos. In: THRALL, M. A. Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2007. p.170-187.
- BANKS, W. J. 1992. Histologia Veterinária Aplicada. 2ª ed. Manole, São Paulo 629p
- BRUGGER, N.; OTZDORFF, C.; WALTER, B.; HOFFMANN, B.; BRAUN, J. Quantitative determination of progesterone (P4) in canine blood serum using an enzyme-linked fluorescence assay. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 46, n. 5, p. 870–3.
- CARLOS, M.M.L.; FREITAS, P.D.F.S.F. Estudo da Cascata de Coagulação Sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.2, p49-55, 2007.
- CASTRO, H. C.; FERREIRA, B. L. A.; NAGASHIMA, T.; SCHUELER, A.; RUEFF, C.; CAMISASCA, D.; MOREIRA, G.; SCOVINO, G.; BORGES, L.; LEAL, M.; FILGUEIRA, M.; PASCHOAL, P.; BERNARDO, V.; BOURGUINHON, S.; RODRIGUES, C. R.; SANTOS, D. O. Plaquetas : ainda um alvo terapêutico Platelets : still a therapeutical target. **Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial**, v. 42, n. 5, p. 321–332, 2006.
- CONCANNON, P. W. Reproductive cycles of the domestic bitch. **Animal Reproduction Science**, v. 124, n. 3–4, p. 200–210, 2011.
- COCKCROFT, PD. Focal cystic endometrial hyperplasia in a bitch. **The Journal of small animal practice**, v. 36, n. 2 p. 77-78, 1995.
- DALMOLIN, M. L. **DISTÚRBIOS DA HEMOSTASIA EM CÃES E GATOS**. 2010. 2010.
- DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J.D. Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. Ames: Iowa University Press, 2001.
- DAY, M. J. Immune system development in the dog and cat. **Journal of comparative pathology**, v. 137 Suppl, p. S10-5.
- DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; VERMEIRSCH, H.; VAN DEN BROECK, W.; CORYN, M. CYSTIC ENDOMETRIAL HYPERPLASIA- PYOMETRA COMPLEX IN THE BITCH : SHOULD THE TWO ENTITLES BE DISCONNECTED ? **Theriogenology**, v. 55, p. 1509–1519, 2001.
- DOW, C. Experimental reproduction of the cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **The Journal of pathology and bacteriology**, v. 69, p. 237–252, 1959.
- DUFORT, R.M; MATROS L. Acquired coagulopathies, In: **Ettinger SJ and EC Feldman, editors, Textbook of veterinary internal medicine**, 6th ed., St. Louis: Elsevier Saunders, 1933-37. 2005

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **TRATADO VETERINÁRIA**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 162, p. 1632- 1649. cap.179, p. 1915-1926. cap. 180, p. 1927-1940

EVANGELISTA, L. S. D. M.; QUESSADA, A. M.; ALVES, R. P. A.; FERNANDO, R.; LOPES, R. R. F. B.; GONÇALVES, L. M. F.; GONÇALVES, F. Função renal em cadelas com piometra antes e após ovariosalpingohisterectomia. **Acta veterinaria brasilica**, v. 4, n. 3, p. 153–151, 2010.

FARSTAD, W. Current state in biotechnology in canine and feline reproduction. **Animal reproduction science**, v. 60–61, p. 375–87.

FIENI, F. Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. **Theriogenology**, v. 66, n. 6–7, p. 1550–1556, 2006.

FIENI, F.; TOPIE, E.; GOGNY, A. Medical Treatment for Pyometra in Dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 49, n. Suppl. 2, p. 28–32, 2014.

FIGUEIREDO, S.; MALM, C.; DIAS, L.; JULIANA, M.; CÉSAR, J.; VEADO, C.; PÁDUA, M.; PÂMELA, C.; LOPES, C.; VALENTE, G. Renal injury in female dogs with pyometra. **Ciencia Rural**, v. 47, n. 5, p. 1–7, 2017.

FOSSUM, T. W.; HEDLUNG, C. S.; HULSE, D. A.; JOHNSON, A. L.; SEIM, H. B.; WILLARD M. D.; CARROLL, G. L. *Cirurgia de Pequenos Animais*. 2 ed. São Paulo: ROCA, 2005. cap. 28, p. 638-644.

GARCIA FILHO, S. P.; MARTINS, L. L.; MACHADO, A. S.; MACHADO, M. R. F. PIOMETRA EM CADELAS : REVISÃO DE LITERATURA. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA**, n. 18, p. 1–8, 2012.

GONÇALVES, R. P. M. **COAGULOGRAMA EM CADELAS COM PIOMETRA E SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA (SRIS)**. 2010. 2010.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11 ed. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2006. cap. 36, p. 457-468.

HAGMAN R., KARLSTAM, E. PERSSON, S, KINDAHL H. Plasma PGF2a metabolite levels in cats with uterine disease. **Theriogenology**, v.72, p.1180-1187, 2009.

HAGMAN, R. **New Aspects of Canine Pyometra Studies on Epidemiology and Pathogenesis**. 2004, 55p.

HAGMAN, R. Canine pyometra : What is new ? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, n. Supplement 3, p. 1–5, 2016.

HAGMAN, R. Molecular aspects of uterine diseases in dogs. **Reproduction in**

**Domestic Animals**, v. 52, p. 37–42, 2017.

HAGMAN, R. Pyometra in Small Animals. **Veterinary Clinics of NA: Small Animal Practice**, v. 48, n. 4, p. 639–661, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001>>.

HOLST, B. S.; GUSTAVSSON, M. H.; LILLIEHÖÖK, I.; MORRISON, D.; JOHANNISSON, A. Leucocyte phagocytosis during the luteal phase in bitches. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 153, n. 1–2, p. 77–82, 2013.

JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina** interna de cães e gatos, Rio de Janeiro: Roca, 5444p, 2015.

JITPEAN, S.; AMBROSEN, A.; EMANUELSON, U.; HAGMAN, R. Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra. **BMC Veterinary Research**, p. 13–11, 2017.

JITPEAN, S.; HAGMAN, R.; HOLST, B. S.; HOGLUND, O. V.; PETTERSSON, A.; EGENVALL, A. Breed Variations in the Incidence of Pyometra and Mammary Tumours in Swedish Dogs Breed Variations in the Incidence of Pyometra and Mammary Tumours in Swedish Dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, n. Supplement 6, p. 347–350, 2012.

JOHNSTON, J.R. et al. Phytogenetic and pathotypic similarities between Escherichia coli isolates from urinary tract infections in dogs and extraintestinal infections in humans. *Journal of Infection Disease*, v.15, n.183, p.897-906, 2001.

KANEKO, J. J.; *Clinical biochemistry of domestic animal* – San Diego, Elsevier; 6 ed 2008;p 130-39,2008.

KUNKITTI, P.; SRISUWATANASAGUL, S.; CHATDARONG, K. Distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor , and leukocyte infiltration in the cervix of cyclic bitches and those with pyometra. **Theriogenology**, v. 75, n. 6, p. 979–987, 2011.

LANGER, B.; WOLOSKER, M. Coagulação e fibrinólise: idéias atuais e suas aplicações clínicas. **Rev Med (São Paulo)**, v. 85, n. 4, p. 157–164, 2006.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. Manual de patologia clínica veterinária. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. p. 77-99.

LOPES, S. T. dos A.; MAUREN, EMANUELLI, P.; SCHMIDT, C.; RAISER, A. G.; MAZZANTI, A.; ALVES, A. S. Valores de referência do tempo de protrombina ( TP ) e tempo de tromboplastina parcial ativada ( TTPa ) em cães. **Ciencia Rural**, v. 35, n. 2, p. 381–384, 2005

MARTINS, L.R.; et al.; Correlação entre a ocorrência de piometra em cadelas nulíparas e multíparas submetidas ou não ao tratamento com anticoncepcionais. In: **Mostra de Iniciação Científica, Botucatu: UNESP**, 2002.

MILLS J. Anaemia. In: Day M, Mackin A, Littlewood J, editors. Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. Gloucester: BSAVA; 2000. p. 29-41.

MEINERZ, A. R.M; CLEFF, M. B; CAMPÊLO, M.S; BARCELLOS, L. E. K; GIL, L. A. F. G; RIBEIRO, C. L. G; Associação dos Índices de Fibrinogênio e contagem de leucócitos : auxílio diagnóstico de cães. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária** –Ano X – Número 19 . de 2012.

MONTEIRO, C. M. R.; PERRI, S. H. V.; CARVALHO, R. C.; KOIVISTO, M. B. Histologia e morfometria em cornos uterinos de cadelas nulíparas, multíparas e tratadas com contraceptivos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, p. 847-851, 2009.

MOROZ, L. R. **Avaliação de parâmetros hemostáticos em cães de diferentes categorias de risco anestésico no período peri-operatório.** 2008.

NASCIMENTO, F. E.; SANTOS, R. L. Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos. Rio de Janeiro:Guanabara-Koogan, 2ª ed.,2003, Cap.5, p. 48-64.

NELSON, R.W. ;COUTO, G. Hemostatic disturbs. In **Small Animal Internal Medicine**. 3 ed. Mosby Elsevier, 2003.cap.89.

OLIVEIRA, E. C. S.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; NEVES, M. M. ENDOCRINOLOGIA REPRODUTIVA E CONTROLE DA FERTILIDADE DA CADELA - REVISÃO (Reproductive endocrinology and fertility control in bitches – a review). **Archives of Veterinary Science**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2003.

OTTENJANN, M.; WEINGART, C.; ARNDT, G.; KOHN, B. Characterization of the Anemia of Inflammatory Disease in Cats with Abscesses, Pyothorax, or Fat Necrosis Mareike. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, p. 1143–1150, 2006.

POPPL, A. G. **AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CICLO ESTRAL E DA HIPERPLASIA ENDOMETRIAL CÍSTICA – PIOMETRA SOBRE A SENSIBILIDADE À INSULINA E CARACTERÍSTICAS DA LIGAÇÃO HORMÔNIO-RECEPTOR EM MÚSCULO DE FÊMEAS CANINAS.** 2008. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, 2008.

PRATSCHKE, K. Systemic complications. In: **Complication in Small Animal Surgery**, Wiley-Blackwell, Cap. 72, p. 517–521, 2016.

PRETZER, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 359–63.

PRIEDKALNS, J. Sistema Reprodutor Feminino. In: Dellmann/Brown. *Histologia Veterinária*. Rio de Janeiro:Guanabara-Koogan, Cap.13, p.268-269, 1982.

RENTON, J. P.; BOYD, J. S.; ECKERSALL, P. D.; FERGUSON, J. M.; HARVEY, M. J.; MULLANEY, J.; PERRY, B. Ovulation, fertilization and early embryonic development in the bitch (*Canis familiaris*). **Journal of reproduction and fertility**, v. 93, p. 221–231, 1991.

REZENDE,S.M.Distúrbios da hemostasia : Doenças hemorrágicas.**Revista Médica de**

**Minas Gerais**, 20.4:p 534-553, Out/Dez, 2010.

SPENCER, T., BAZER, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 4-13, 2004.

SANT'ANNA, M. C.; GIORDANO, L. G. P.; FLAIBAN, K. K. M. C.; MULLER, E. E.; MARTINS, M. I. M. Prognostic markers of canine pyometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 6, p. 1711–1717, 2014.

SANTOS, A. A.; PINHEIRO, Y. T.; CARDOSO, J. F. da S.; SOUSA, E. T. Coagulação sanguínea e modelos de sinalização : uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 11, n. 1, p. 20–23, 2015.

SANTOS, A. C. D. **Avaliação da predisposição genética e fatores preditivos para o desenvolvimento do choque séptico em cadelas acometidas por piometra**. 2014. USP, 2014.

SMITH, F. O. Canine pyometra. *Theriogenology*, v. 66, p. 610 – 612, 2006.

THRALL, M. A. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2 ed. São Paulo: ROCA, 2015. 582p.

TSUTSUI, T.; TAKAHASHI, F.; HORI, T.; KAWAKAMI, E.; CONCANNON, P. W. Prolonged duration of fertility of dog ova. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 44 Suppl 2, p. 230–3.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; VERSTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 364–374, 2008.

VIEIRA, M. M. F.; OLIVEIRA, T. E. S.; OLIVEIRA, L. E. D.; DANTAS, W. de M. F. Detecção do ciclo estral por meio de citologia vaginal de cadelas atendidas no hospital veterinário da UNIVIÇOSA/FACISA. **Anais IV SIMPAC**, v. 4, n. 1, p. 143–148, 2013.

VINE, A. K. Recent advances in haemostasis and thrombosis. **RETINA**, v. 29, n. 1, p.1 – 7, 2009

VITAL, A. F.; SOBREIRA, M. F. R.; CALAZANS, S. G. Distúrbios hemostáticos em cães com neoplasia : revisão de literatura. **Medicina Veterinária**, v. 8, n. 1, p. 12–19, 2014.

WANKE, M.M., GOBELLO, C. *Reproduction en Caninos y Felinos Domesticos*. 1 ed. Buenos Aires: Inter-Medica editorial, 2006, 309p.

WEISS, RR, Calomeno MA, Sousa RS, Muradas PR. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. **Archives of Veterinary Science**. 2004;9(2):81-7.20.

WEISS, H. J.; LAGES, B. Evidence for tissue factor-dependent activation of the classic extrinsic coagulation mechanism in blood obtained from bleeding time wounds. *BLOOD*, n. 71, p. 629-635, 2008.

ZACHARY, J. F. **Bases da patologia Veterinária**. 5ª edição. Editora Elsevier. 2013. 1344 p.

ZHANG, J.; VILLAR, J.; SUN, W.; Merialdi, M.; ABDEL-ALEEM, H.; MATHAI, M.; ALI, M.; YU, K. F.; ZAVALETA, N.; PURWAR, M.; NGUYEN, T. N. N.; CAMPODONICO, L.; LANDOULSI, S.; LINDHEIMER, M.; CARROLI, G. Blood pressure dynamics during pregnancy and spontaneous preterm birth. **American journal of obstetrics and gynecology**, v. 197, n. 2, p. 162.e1-6.