

**HEMATOLOGÍA VETERINARIA: MECANISMOS
PRODUCTORES DE TROMBOCITOPENIA EN
CANINOS.**



**TRABAJO FINAL DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO**

Orientación práctica profesional en pequeños animales.

Autora: Luciana Román.

Tutor: Mag. Med. Vet. Esp. Gabriela Iglesias.

Evaluador: Esp. Med. Vet. Andrés Sosa.

Universidad Nacional de Río Negro.

Año: 2021.

Argentina.

Dedicatoria.

Papá y Mamá por el sacrificio, los valores y principios inculcados...

Mariano por brindarme compañerismo y paciencia...

Samuel por ser mi fiel compañero en estos años...



Agradecimientos.

En primer lugar, a la Universidad Nacional de Río Negro que me brindó las herramientas. Tanto personal docente como no docente aportaron en mi formación.

A Gabriela Iglesias por aceptar ser la tutora y Andrés Sosa por ser el evaluador del presente informe final. Gracias por aconsejarme y guiarme.

Mi familia, sin la ayuda de ustedes nada hubiese sido posible. Gracias por creer y confiar en mí.

Mariano, mi compañero, el que siempre está en cada una de mis decisiones. Gracias por tanto amor...

Mis mascotas, las que ya no están y mi gato Samuel, quienes me enseñaron a respetarlos, amarlos y me brindan un constante aprendizaje.

Colegas, que me aconsejan y guían profesionalmente, ¡gracias! (Diego Fabrega, Marcelo Álvarez, Mariela Rizzutti).

Por último, a cada una de las personas que desinteresadamente aportaron un granito de arena para lograr cumplir mi sueño desde pequeña: el de ser Médica Veterinaria...



Nunca tengas miedo de hacer lo correcto, especialmente si está en juego el bienestar de una persona o un animal...

Martin Luther King.



ÍNDICE DE CONTENIDOS.

<u>DEDICATORIA.</u>	2
<u>AGRADECIMIENTOS.</u>	3
<u>INTRODUCCIÓN.</u>	9
<u>CAPÍTULO I. FISIOLÓGÍA DE LA HEMOSTASIA. CONCEPTOS BÁSICOS.</u>	11
HEMATOPOYESIS: MEGACARIOPOYESIS Y TROMBOPOYESIS.	11
PLAQUETAS O TROMBOCITOS: MORFOLOGÍA.	15
HEMOSTASIA.	19
<i>HEMOSTASIA PRIMARIA.</i>	20
<i>HEMOSTASIA SECUNDARIA.</i>	23
<i>FIBRINÓLISIS.</i>	26
<u>CAPÍTULO II: FISIOPATOLOGÍA DE LA TROMBOCITOPENIA.</u>	28
<i>ANAMNESIS Y HALLAZGOS CLÍNICOS.</i>	29
TROMBOCITOPENIA POR DISMINUCIÓN EN LA PRODUCCIÓN PLAQUETARIA.	33
TROMBOCITOPENIA POR AUMENTO EN LA DESTRUCCIÓN PLAQUETARIA.	39
TROMBOCITOPENIA POR INCREMENTO DEL CONSUMO PLAQUETARIO.	45
TROMBOCITOPENIA POR INCREMENTO DEL SECUESTRO PLAQUETARIO.	49
<u>CAPÍTULO III: ENFOQUE DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICA.</u>	51
ENFOQUE DIAGNÓSTICO.	51
<i>ANÁLISIS CLÍNICOS.</i>	51
<i>DIAGNÓSTICO POR IMÁGENES.</i>	71
<i>EVALUACIÓN DE MÉDULA ÓSEA.</i>	71
<i>SEROLOGÍA.</i>	75
TERAPÉUTICA.	78
<i>MANEJO DEL PACIENTE TROMBOCITOPÉNICO.</i>	78
<i>PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA TERAPIA.</i>	79
TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA.	89
<i>TERAPIAS ALTERNATIVAS: MEDICINA HOLÍSTICA.</i>	95
<u>CAPÍTULO V: REPORTE DE UN CASO CLÍNICO.</u>	96
HISTORIA CLÍNICA 752 "THEO".	98
<i>RESEÑA.</i>	98
<i>ANAMNESIS.</i>	99



<i>EXPLORACIÓN CLÍNICA.</i>	101
<i>DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO.</i>	105
<i>DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES.</i>	105
<i>MÉTODOS COMPLEMENTARIOS.</i>	106
<i>TERAPÉUTICA.</i>	110
<i>EVOLUCIÓN.</i>	111
CONCLUSIÓN.	113
BIBLIOGRAFÍA.	115

ÍNDICE DE FIGURAS.

FIGURA N° 1: ETAPAS DEL DESARROLLO DE MEGACARIOCITOS EN FROTIS DE ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA DE CANINOS. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).....	13
FIGURA N° 2: ETAPAS DE LA MEGACARIOPOYESIS Y TROMBOPOYESIS. FUENTE PROPIA.	14
FIGURA N° 3: DIAGRAMA DE UNA PLAQUETA. FUENTE PROPIA.....	17
FIGURA N° 4: VASOCONSTRICCIÓN ARTERIOLAR. EXTRAÍDO DE (ZACHARY, J., 2016).	21
FIGURA N° 5: HEMOSTASIA PRIMARIA. EXTRAÍDO DE (ZACHARY J., 2016).	22
FIGURA N° 6: HEMOSTASIA SECUNDARIA. EXTRAÍDO DE (ZACHARY, J., 2016).....	23
FIGURA N° 7: NIVELES DE REGULACIÓN DE LA FIBRINÓLISIS. FUENTE PROPIA.	26
FIGURA N° 8: TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA (MECANISMOS Y CAUSAS). FUENTE PROPIA.	29
FIGURA N° 9: REPRESENTACIÓN ILUSTRATIVA DE HEMORRAGIA HEMOSTÁTICA PRIMARIA Y SECUNDARIA. EXTRAÍDO DE (COUTO, G., 2020); EN IMAGEN IZQUIERDA (PETEQUIAS, EQUIMOSIS) Y EN IMAGEN DERECHA (HEMATOMA O SANGRE EN UNA CAVIDAD).	30
FIGURA N° 10: MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE FACEBOOK VC FORESTVILLE ANIMAL HOSPITAL.	30
FIGURA N° 11: MUCOSA PREPUCLIAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.	31
FIGURA N° 12: MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....	31
FIGURA N° 13: EXTRAÍDO DE DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES GASTROINTESTINALES, OLIVIER DOSSIN.	31
FIGURA N° 14: EXTRAÍDO DE DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES GASTROINTESTINALES, OLIVIER DOSSIN.	32
FIGURA N° 15: EPISTAXIS UNILATERAL. EXTRAÍDO DE LA WEB CLÍNICA SAN FRANCISCO.	32
FIGURA N° 16: HIPEMA CANINO. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.	32
FIGURA N° 17: CICLO DE VIDA DE EHRlichia CANIS. MÓRULA DENTRO DEL CITOPLASMA DE UN MONOCITO EN FROTIS SANGUÍNEO. EXTRAÍDO DE (SYKES, J., 2014).	36
FIGURA N° 18: HEMORRAGIA RETINAL EN CANINO. EXTRAÍDO DE (SYKES, J., 2014).	37
FIGURA N° 19: LINFOMA METASTÁSICO EN LA MÉDULA ÓSEA DE UN CANINO. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J.,2012).	39
FIGURA N° 20: REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD TIPO II. FUENTE PROPIA.....	40
FIGURA N° 21: ROL DE NUTRICIÓN EN LA ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES. EXTRAÍDO DE (DODDS, J., 2015 – CANINE NUTRIGENOMICS).....	41
FIGURA N° 22: MANIFESTACIONES DERMATOLÓGICAS FRECUENTES EN CANINO CON LUPUS. EXTRAÍDO DE (CORNEJO, C., 2015).	44
FIGURA N° 23: HEMANGIOSARCOMA CON LOCALIZACIÓN EN BAZO CANINO. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.....	48
FIGURA N° 24: POSICIONAMIENTO DEL PACIENTE. EXTRAÍDO DE LA WEB HOGARMANIA (IMAGEN IZQUIERDA) Y WEB ELTIEMPO (IMAGEN DERECHA).	53



FIGURA N° 25: CONTADOR HEMATOLÓGICO. FUENTE PROPIA.	54
FIGURA N° 26: LECTURA DE MICROHEMATOCRITO EN ÁBACO. EXTRAÍDO (ARAUZ, M. Y COL., 2020).	55
FIGURA N° 27: RETÍCULO DE THOMA, CONTEO DE ERITROCITOS. EXTRAÍDO DE LA WEB INSILICO, MODIFICADO PARA ESTE TRABAJO.	56
FIGURA N° 28: CONTEO DE GLÓBULOS BLANCOS. EXTRAÍDO DE LA WEB INSILICO, MODIFICADO PARA ESTE TRABAJO.	59
FIGURA N° 29: TÉCNICA PARA REALIZAR UN FROTIS SANGUÍNEO. EXTRAÍDO DE LA WEB RESEARCHGATE.	61
FIGURA N° 30: ESQUISTOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	61
FIGURA N° 31: ESFEROCITO. EXTRAÍDO DE CATEDRA DE ANÁLISIS CLÍNICOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO NEGRO (2019).	62
FIGURA N° 32: ESTOMATOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	62
FIGURA N° 33: ACANTOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	62
FIGURA N° 34: EHRlichia CANIS. VACUOLA CITOPASMÁTICA "MÓRULA". EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	63
FIGURA N° 35: HEPATOOZON CANIS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	63
FIGURA N° 36: MORFOLOGÍA PLAQUETARIA. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	64
FIGURA N° 37: AGREGADOS PLAQUETARIOS. EXTRAÍDO (VALENCIANO Y COL., 2014).	65
FIGURA N° 38: FROTIS SANGUÍNEO CON AUSENCIA DE PLAQUETAS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	65
FIGURA N° 39: FROTIS SANGUÍNEO CON AUMENTO EN EL NÚMERO DE PLAQUETAS. EXTRAÍDO (VALENCIANO Y COL., 2014).	66
FIGURA N° 40: MACROPLAQUETAS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).	66
FIGURA N° 41: TIEMPO DE SANGRADO EN MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB VETFOLIO.	68
FIGURA N° 42: REFRACTÓMETRO. EXTRAÍDO DE (GREGG, L. Y COL., 2011).	69
FIGURA N° 43: SITIOS DE EXTRACCIÓN DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).	72
FIGURA N° 44: AGUJA PARA ASPIRACIÓN. SUJECIÓN, TRICOTOMÍA Y ANTISEPSIA. EXTRAÍDO (HARVEY, J., 2012).	72
FIGURA N° 45: PROCEDIMIENTO PARA ASPIRACIÓN DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).	73
FIGURA N° 46: HIPERPLASIA MEGACARIOCÍTICA EN ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO, A. Y COL., 2020).	74
FIGURA N° 47: DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA G POR CITOMETRÍA DE FLUJO. EXTRAÍDO Y MODIFICADO DE LA WEB KANSAS STATE UNIVERSITY.	75
FIGURA N° 48: TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO, RESULTADO POSITIVO EHRlichia CANIS. EXTRAÍDO DE UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID.	77
FIGURA N° 49: ATROFIA DEL MÚSCULO TEMPORAL POR DOSIS INMUNOSUPRESORAS DE PREDNISOLONA. EXTRAÍDO DE (COUTO, G., 2020).	81
FIGURA N° 50: EJEMPLO DE ESQUEMA TERAPÉUTICO EN CANINO CON TIM. FUENTE PROPIA.	84
FIGURA N° 51: COMPATIBILIDAD SANGUÍNEA. FUENTE PROPIA.	91
FIGURA N° 52: TEST RÁPIDO DE AGLUTINACIÓN PARA DETECTAR ANTÍGENO DEA1. EXTRAÍDO DE LA WEB RAPID VET.	92
FIGURA N° 53: EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA TRANSFUNDIR. EXTRAÍDO DE WEB CLINICIAN'S BRIEF.	92
FIGURA N° 54: SISTEMA DE EXTRACCIÓN DE SANGRE (BOLSAS DE 450 ML Y BOLSA SATÉLITE). EXTRAÍDO DE (SINK, C., 2017).	93
FIGURA N° 55: IMAGEN SATELITAL (HEMEVE). FUENTE GOOGLE EARTH.	96
FIGURA N° 56: PRACTICAS HOSPITALARIAS EN HOSPITAL ESCUELA. FUENTE PROPIA.	97
FIGURA N° 57: PACIENTE THEO. FUENTE PROPIA.	98
FIGURA N° 58: THEO, ESTUDIOS PREVIOS. FUENTE PROPIA.	100
FIGURA N° 59: THEO, ESTUDIOS PREVIOS. FUENTE PROPIA.	101
FIGURA N° 60: THEO. EPISTAXIS. FUENTE PROPIA.	102
FIGURA N° 61: THEO, LESIONES PETEQUIALES Y EQUIMÓTICAS. FUENTE PROPIA.	103
FIGURA N° 62: THEO, MUCOSA PENEANA CON PETEQUIAS. FUENTE PROPIA.	103



FIGURA N° 63: THEO, LESIONES HEMORRÁGICAS EN PIEL Y ANO. FUENTE PROPIA.....	105
FIGURA N° 64: THEO, RADIOGRAFÍAS LATERO-LATERAL Y VENTRODORSAL DE CRÁNEO. FUENTE PROPIA.	108
FIGURA N° 65: THEO, RADIOGRAFÍA LATERO-LATERAL DERECHA DE TÓRAX. FUENTE PROPIA.	108
FIGURA N° 66: THEO, FROTIS SANGUÍNEO (OBJETIVO 100X ACEITE DE INMERSIÓN; TINCIÓN MAY- GRÜNWARD GIEMSA). FUENTE PROPIA.	109
FIGURA N° 67: THEO, PERFIL HEMOSTÁTICO BÁSICO. FUENTE PROPIA.....	110
FIGURA N° 68: THEO, EVOLUCIÓN. FUENTE PROPIA.	112

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA N° 1: LESIONES HEMORRÁGICAS SUPERFICIALES. FUENTE PROPIA.....	32
TABLA N° 2: TIPOS Y CAUSAS DE ESPLENOMEGALIA. FUENTE PROPIA, BASADO EN (COUTO, G., 2010).....	50
TABLA N° 3: TIPOS DE ANEMIA SEGÚN EL AGENTE CAUSAL DE TROMBOCITOPENIA. FUENTE PROPIA.	58
TABLA N° 4: ALTERACIONES ERITROCITARIAS. FUENTE PROPIA.	62
TABLA N° 5: PRODUCTOS SANGUÍNEOS, INDICACIONES Y DOSIS. EXTRAÍDO DE (FRAGIO Y COL., 2009).	94



INTRODUCCIÓN.

El término hematología, deriva de los vocablos griegos *haimato* que quiere decir “sangre” y *logía* que se refiere a “estudio”. Esta ciencia o disciplina se encarga del estudio de la morfología, fisiología y patología de los componentes sanguíneos y de los tejidos hematopoyéticos con el fin de diagnosticar, tratar e investigar las patologías de la sangre y de los órganos hematopoyéticos. Favorablemente, hoy en día la mayoría de los Médicos Veterinarios acuden a esta herramienta ya que cada día es más accesible y actualmente, ciertos avances en la disciplina le permiten al médico mejorar las técnicas de diagnóstico y los resultados de los pacientes animales.

Entre las patologías hemáticas más comunes en caninos, los trastornos de la hemostasia primaria, específicamente los que reciben el nombre de “cuantitativos” son los principales causantes de sangrado espontáneo en estos pacientes: las trombocitopenias poseen diversos agentes causales y mecanismos de producción, los cuales deben ser analizados para poder diferenciarlas e instaurar un correcto diagnóstico.

El objetivo general del presente trabajo, es realizar una revisión bibliográfica de los mecanismos productores de trombocitopenia y los agentes causales más relevantes para concluir con el reporte de un caso clínico de *trombocitopenia inmunomediada* en un paciente canino que recibió atención en el Hospital Escuela. Lamentablemente, tanto en Medicina Humana como en Veterinaria, el diagnóstico de esta enfermedad es por exclusión; por lo tanto, sería fundamental que los profesionales reconozcan los signos clínicos de la misma y las actuales técnicas de diagnóstico para su reconocimiento.

Los objetivos específicos de la revisión son:

- ◆ Comprender y sintetizar la fisiología de la hemostasia.
- ◆ Categorizar la enfermedad dentro de los trastornos de la hemostasia y desarrollar las etiologías y fisiopatología de este trastorno.
- ◆ Describir técnicas de diagnóstico actuales y resaltar la importancia del examen físico del paciente.
- ◆ Resumir las terapias y la combinación de las mismas, que pueden ser establecidas en un paciente con esta patología hemática.

Para cumplir con los objetivos, la presente revisión bibliográfica se encuentra organizada de la siguiente manera: en el primer capítulo se describen conceptos básicos de la hemostasia, para comprender luego en el segundo capítulo, la fisiopatología de los distintos



tipos de trombocitopenia. En el tercer capítulo se realiza un enfoque diagnóstico de la enfermedad y la presentación de diversas terapias presentes en la actualidad; y, por último, en el cuarto capítulo se expone un caso clínico de trombocitopenia inmunomediada en un canino que recibió atención en las Prácticas Profesionales del Hospital Escuela.

Esta revisión bibliográfica cuenta principalmente con gran cantidad de información muy moderna sobre esta patología sanguínea y también con cuadros e imágenes ilustrativas que contribuyen al estudio de cada apartado en cuestión.



CAPÍTULO I. FISIOLOGÍA DE LA HEMOSTASIA. Conceptos básicos.

Hematopoyesis: Megacariopoyesis y Trombopoyesis.

La hematopoyesis (*hema*: “sangre”; *poiesis*: “formación”) es el proceso de generación, regulación, producción y mantenimiento de las células sanguíneas que se desarrollan a partir de una única célula madre progenitora de la médula ósea roja activa y que contiene las células sanguíneas en desarrollo y los megacariocitos particularmente. Es decir, comprende la eritropoyesis (producción de glóbulos rojos), leucopoyesis (producción de glóbulos blancos) y trombopoyesis (producción de plaquetas). La función de este proceso es mantener constante el número de células, compensando la pérdida diaria de las mismas ya que tienen una vida media limitada: se producen y se destruyen continuamente.

La formación de células sanguíneas se inicia en las primeras semanas del desarrollo embrionario. La fase del saco vitelino, que ocurre al comienzo de la gestación, se caracteriza por la formación de islotes sanguíneos en la pared del mismo; la fase hepática ocurre en el inicio del desarrollo fetal y la fase medular ósea comienza al final de la gestación y durante toda la vida (Ross, M., 2016). Es decir que la médula ósea es el único lugar en donde ocurre este proceso luego del nacimiento, pero en condiciones patológicas, el hígado y bazo pueden recuperar su función hematopoyética.

En forma general, a partir de este proceso se forman las células madre (CTH) que proliferan, se auto renuevan y se diferencian dando lugar a distintos tipos celulares, es decir son multipotenciales. Las CTH dan origen a múltiples colonias de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) que conforman el segundo compartimento de la médula ósea y se diferencian en células progenitoras mieloides comunes (CMP) y células progenitoras linfoides comunes (CLP). Las primeras (anteriormente llamadas unidades formadoras de colonias de granulocitos, eritrocitos, monocitos y megacariocitos) se diferencian en progenitores específicos del linaje y comprenden a las células progenitoras de megacariocitos/eritrocitos y células progenitoras de granulocitos/monocitos (Ross, M., 2016) Es decir, las plaquetas al igual que los granulocitos, monocitos y eritrocitos pertenecen al linaje mieloides de la hematopoyesis, que luego se diferencia en una célula progenitora de megacariocitos/eritrocitos (MEP) bipotencial y posteriormente avanza hacia la célula progenitora de megacariocitos (MKP) específicamente.



Particularmente, la megacariopoyesis es el proceso de diferenciación desde la célula madre hasta el megacariocito maduro. Los progenitores más tempranos de este proceso, se denominan células formadoras de brotes de megacariocitos, que dan lugar a células formadoras de colonias que por mitosis se transforman en la primera célula reconocible morfológicamente en la médula ósea, que según la secuencia madurativa es el megacarioblasto; esta célula tiene un núcleo en forma de riñón no lobulado, citoplasma basófilo, azul, desprovisto de gránulos y mide aproximadamente de quince a cincuenta micrómetros de diámetro.

Las células de este sistema de formación son peculiares, ya que el núcleo atraviesa por múltiples divisiones mitóticas sin segmentación correspondiente del citoplasma, produciendo células poliploides gigantes con duplicación de cromosomas. Este proceso se denomina endomitosis y gracias al tamaño celular y a la gran cantidad de citoplasma le permite a la célula constituir las organelas que componen las plaquetas. Por lo tanto, el megacarioblasto sufre endomitosis sucesivas para formar el megacariocito, “*mega*” (*grande*) y “*karion*” (*núcleo*), la célula de mayor tamaño de la médula ósea: mide entre 50 y 150 μm de diámetro con un núcleo multilobulado y poliploide (hasta 64 n). El citoplasma es muy extenso, con granulaciones azurófilas esparcidas, resultado de la poliploidización (aumento en el número cromosómico) por el proceso endomitótico.

Por lo tanto, cuanto mayor tamaño tenga esta célula y mayor poliploidización, mayor será la cantidad de plaquetas que puede generar en cada división celular. A modo de ejemplo, los megacariocitos maduros que son $2n$ pueden liberar una o dos plaquetas, en cambio si son $16n$ dará lugar a dos mil plaquetas aproximadamente (Gonzales y col., 2018).

La función de los megacariocitos es primordial, ya que son determinantes en los componentes de la membrana y el contenido de los gránulos necesarios para la función plaquetaria. Según Héller, P., (2017) *“a medida que el megacariocito madura desarrolla características específicas de linaje, incluyendo la adquisición de gránulos específicos plaquetarios alfa y densos y un sistema de demarcación de membranas que constituirá el reservorio de la membrana de las futuras plaquetas”* (p. 7 y 8). Además, se sintetizan componentes del citoesqueleto como actina, filamina, miosina, tubulina que son proteínas fundamentales para la etapa de la trombopoyesis.



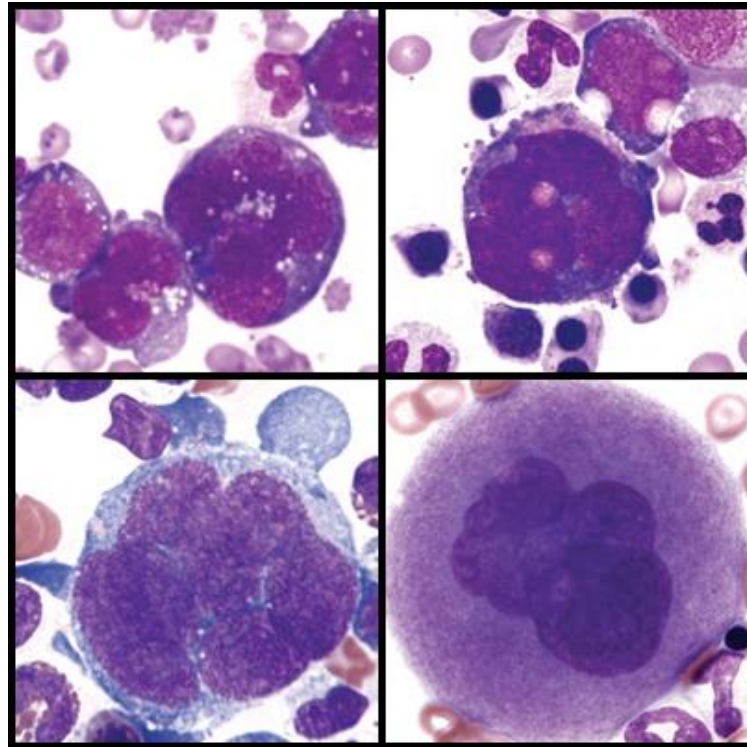


FIGURA N° 1: ETAPAS DEL DESARROLLO DE MEGACARIOCITOS EN FROTIS DE ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA DE CANINOS. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).

Con el mismo aumento para demostrar el agrandamiento; tinción Wright – Giemsa. A, megacarioblasto con un solo núcleo en extremo izquierdo, promegacariocito con dos núcleos (abajo a la izquierda), promegacariocito con cuatro núcleos (arriba a la derecha) y una célula megacariocítica con seis núcleos. B, promegacariocito con cuatro núcleos rodeados de precursores mieloides y eritroides más pequeños. C, megacariocito maduro con gránulos tejidos de magenta en el citoplasma. D, megacariocito maduro con gránulos tejidos de magenta en el citoplasma.

Por lo que se refiere a trombopoyesis, es el proceso específico de formación de plaquetas; este evento consiste en la maduración final de los megacariocitos para la formación de proplaquetas que posteriormente serán liberadas al torrente sanguíneo. Para esta última instancia, el megacariocito se ubica cerca de los sinusoides de la médula ósea, una unidad vascular que participa como una barrera entre las células hematopoyéticas y la circulación sanguínea periférica. Las proplaquetas son prolongaciones del citoplasma de 2 a 4 μm de diámetro: estas prolongaciones empujan una célula endotelial y a través de la fusión de membranas de la misma, se forma una abertura transitoria por la cual las células ingresaran a la circulación sanguínea. Es decir, en este tipo de circulación es necesario que los elementos figurados atraviesen el endotelio para entrar en la circulación, por lo tanto, la migración de los mismos es transcelular (Gonzales y col., 2018).



Como señala Heller, P., (2017), *“la importancia del citoesqueleto es puesta de manifiesto por el hecho de que mutaciones en diversos genes que codifican para los componentes del mismo, dan lugar a trombocitopenias de origen genético”* (p.8). Luego de que las proplaquetas atraviesan la célula endotelial, el flujo sanguíneo por tracción, es un estímulo mecánico para que de las mismas se desprendan los fragmentos celulares (plaquetas). Se producen 2000 a 5000 plaquetas nuevas por cada megacariocito. El contenido plaquetario se transporta a lo largo del eje de las proplaquetas hacia el extremo terminal del megacariocito, donde ocurre la liberación de plaquetas a la sangre. Los microtúbulos se alinean y deslizan entre sí para generar la elongación necesaria del proceso proplaquetario y generan un “andamio” para el transporte de organelas.

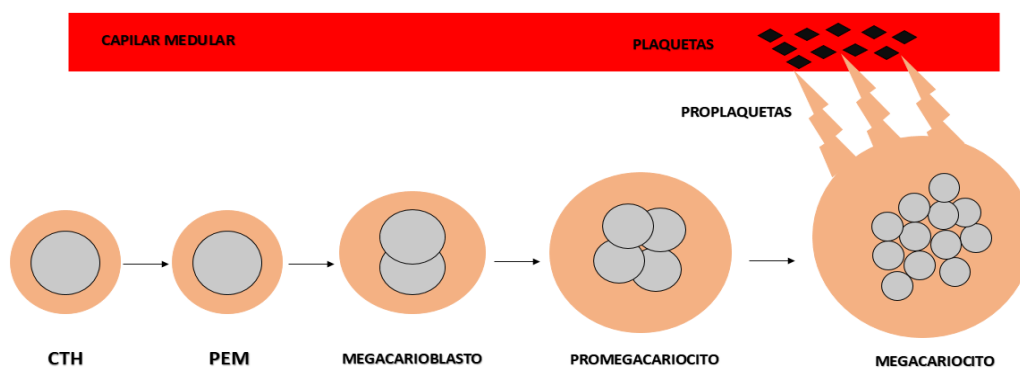


FIGURA N° 2: ETAPAS DE LA MEGACARIOPOYESIS Y TROMBOPOYESIS. FUENTE PROPIA.

CTH (célula madre), PEM (células progenitoras de megacariocitos y eritrocitos).

De acuerdo con Weiss, D., (2011) *“se necesitan 4 – 5 días para completar la secuencia de desarrollo de megacariocitos a la liberación de nuevas plaquetas”* y además agrega que *“en condiciones normales, existe un estado estable entre el número de plaquetas producidas y plaquetas destruidas”* (p. 577).

En cuanto a la regulación de estos procesos, están implicadas diversas citoquinas y factores de crecimiento: Kelemen en 1958, acuñó el término trombopoyetina (TPO) para *“describir una sustancia humoral causante del aumento de la producción de plaquetas tras una trombocitopenia”*. La trombopoyetina es una hormona glucoprotéica sintetizada en el hígado, riñón y estroma de médula ósea que estimula la síntesis de megacariocitos y su maduración. La TPO cumple un rol esencial de regulación en la megacariopoyesis, ya que



estimula todas las etapas de la misma: proliferación, diferenciación, supervivencia, endomitosis y maduración. Las concentraciones plasmáticas de TPO, tienen una regulación compleja: por ejemplo, cuando aumenta el número de plaquetas, hay mayor captación y depuración de la hormona por unión a su receptor presente en los megacariocitos y plaquetas, disminuyen los niveles plasmáticos de TPO y por lo tanto el estímulo para la megacariocitopoyesis es menor. Al contrario, cuando el número de plaquetas disminuye hay menor captación por parte de los receptores y por lo tanto aumenta la TPO plasmática, estimulando así, la megacariocitopoyesis (Heller, P., 2017).

Plaquetas o Trombocitos: Morfología.

El reconocimiento de las plaquetas como una tercera partícula en la sangre se debe a los trabajos de Giulio Bizzozero (1846–1901) de Várese – Italia y George Hayem (1841–1935) de París. Hayem comunicó que *"en la sangre de todos los vertebrados existen unos pequeños elementos que no son ni los glóbulos rojos ni los glóbulos blancos"* y los llamó *hematoblastos*, porque pensó que eran precursores de los eritrocitos. Describió cómo se agregan y cambian de forma y su interacción con la fibrina cuando la sangre es removida. Reconoció que detienen la hemorragia y les atribuyó una doble función: *"acelerar la coagulación y jugar un papel en la regeneración de la sangre"* (Avila, R., 2005). Además de esta doble función en la hemostasia sanguínea, también tienen funciones no hemostáticas como en la inflamación, en inmunidad y en el cáncer. Guzmán Grenfell, A. y col. (2005) indican que *"Tal diversidad funcional es consistente con la idea de que las plaquetas en los mamíferos se originaron durante el curso de la evolución, a partir de un tipo de célula defensiva y multifuncional"* (pág. 240).

Las plaquetas son una de las primeras células que se acumulan en los sitios de daño tisular, liberando factores que inician una cascada inflamatoria que atrae leucocitos, activan células blanco y estimulan la reparación y el crecimiento del vaso dañado; por lo tanto, participan en la inflamación y son una fuente de mediadores que se utilizan en este proceso. Estos mediadores son factores que intervienen en la quimiotaxis, angiogénesis, degradación de matriz extracelular y eventos de señalización en células blanco. Los mismos se encuentran almacenados en los gránulos, en la síntesis de eicosanoides y fosfolípidos (Guzmán y col. 2005). También, estos fragmentos celulares son importantes para mantener la integridad del endotelio vascular, ya que, en pacientes con trombocitopenia grave, el endotelio se debilita y los glóbulos rojos escapan a través de los capilares dañados: la presencia de glóbulos rojos



en el subcutáneo se presenta en forma de petequias y equimosis, lesiones típicas de esta enfermedad que serán desarrolladas posteriormente.

En cuanto al metabolismo plaquetario, merece la pena subrayar el rol del bazo. Las plaquetas se encuentran en circulación sanguínea entre cinco a nueve días en mamíferos: del total de plaquetas, el treinta por ciento se encuentra en el bazo de forma transitoria en un individuo en reposo (Weiss, D., 2011). Además, (Harvey, J., 2012) postula que *“en perros a los que se les realizó esplenectomía, la vida útil de las plaquetas aumentó de una media de 5,5 días a una media de 8 días, lo que sugiere que el bazo es hábil para reconocer y eliminar plaquetas envejecidas en perros”* (p.191). Estos fragmentos celulares, a medida que envejecen o están alterados, son retirados de la circulación sanguínea por macrófagos (sistema reticuloendotelial específicamente) presentes en bazo e hígado, gracias a la expresión de fosfatidilserina (un fosfolípido presente en la membrana plaquetaria externa dañada). También las plaquetas seniles, expresan glicoproteínas desnaturalizadas y proteoglicanos que son reconocidos por estas células.

En los frotis sanguíneos, las plaquetas de los mamíferos se observan como fragmentos celulares anucleados de citoplasma. Las mismas circulan en la sangre en forma discoideas, biconvexas y aplanadas cuando no son estimuladas y cambian de forma cuando se encuentran activas. Miden entre 2,2 – 3,7 μm de diámetro y 0,5 μm de espesor y poseen gránulos y numerosas organelas en su interior. El número total de plaquetas en circulación sanguínea, como pauta general y no específica en caninos es 200- 500 $\times 10^3/\mu\text{l}$ y en felinos 300 - 800 $\times 10^3/\mu\text{l}$. Un descenso en el número de las mismas se denomina trombocitopenia y un aumento, trombocitosis.

En cuanto a su ultraestructura, (Ross, M., 2016) a través del estudio de las plaquetas por microscopía electrónica, divide estos fragmentos celulares en cuatro zonas. En primer lugar, la zona periférica está constituida por la membrana celular cubierta por una capa superficial de glucocálix que contiene glicoproteínas, glucosaminoglicanos y factores de la coagulación. Una zona estructural que contiene microtúbulos, filamentos de actina, miosina y proteínas fijadoras de actina. La zona de orgánulos que se encuentra en el centro de la plaqueta contiene mitocondrias, peroxisomas, glucógeno y tres tipos de gránulos (alfa, beta, delta). Por último, la zona membranosa se compone de dos canales: sistema canalicular abierto y sistema tubular denso (depósito de iones calcio).



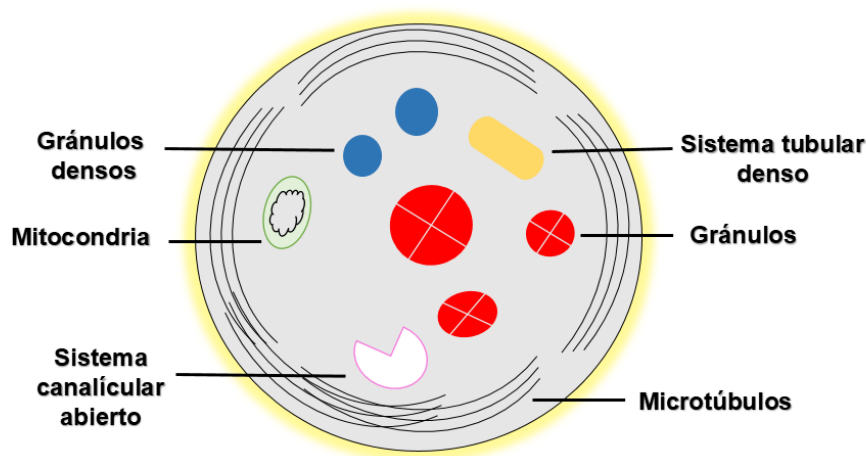


FIGURA N° 3: DIAGRAMA DE UNA PLAQUETA. FUENTE PROPIA.

Al igual que otros tipos de células, la membrana celular de estos fragmentos está formada por una bicapa de fosfolípidos que hacen a un núcleo hidrofóbico. Esta bicapa a su vez contiene proteínas y glicoproteínas que actúan como receptores especializados. La función de la membrana plaquetaria es fundamental, ya que interviene en la adhesión del subendotelio expuesto y favorece la agregación y la formación del trombo plaquetario. Cubriendo la membrana, se encuentra el glicocálix: una cobertura de glicoproteínas encargadas de la adhesión plaquetaria y fibrinógeno (factor de la coagulación) que interviene en la agregación plaquetaria. Esta cobertura es crucial para el contacto con el endotelio y con otras células; es responsable de la carga negativa en la superficie de la plaqueta, que provoca repulsión con otros elementos de la pared vascular o de la circulación.

El citoplasma principalmente está constituido por microtúbulos (formados por la proteína tubulina), filamentos de actina y miosina. Estas proteínas conforman una red que mantiene la estructura discoidea de la plaqueta en reposo y luego de su activación sufre un cambio conformacional. (Monteiro y col., 2001) describen la importancia de estas proteínas en la forma de la célula: *“La actina, el mayor componente del citoesqueleto, se encuentra en las plaquetas no activadas, tanto en la forma polimerizada como en la forma monomérica. Cuando las plaquetas son activadas, una cantidad adicional de actina se polimeriza y se asocia a otras proteínas, tales como, la tropomiosina y la α -actinina, lo que determina la organización de estos filamentos en una red tridimensional periférica y la formación de haces, originando los pseudópodos”*. La transformación de la proteína actina, permite el cambio de



forma de las plaquetas luego de su activación. La proteína miosina es la encargada de la fuerza contráctil de esta célula, presente en el momento de la formación del tapón plaquetario.

En el citoplasma, también se encuentra contenida la zona de gránulos. Esta zona presenta tres tipos de gránulos en su interior: alfa, densos y lisosomas que varían en contenido y morfología:

- ◆ Gránulos alfa: se encuentran en mayor cantidad y son los que presentan mayor tamaño. Están compuestos por proteínas adhesivas (con funciones en la hemostasia primaria debido al contacto celular), glicoproteínas de membrana (que tienen funciones en la adhesión y agregación plaquetaria y en la interacción plaqueta – leucocito y plaqueta – pared vascular), factores de crecimiento (que favorecen la quimiotaxis, la proliferación celular y la angiogénesis), factores de la coagulación (encargados de la generación de trombina), factores fibrinolíticos (como la plasmina), inhibidores de proteasas, proteoglicanos e inmunoglobulinas.
- ◆ Gránulos densos: el nombre se le atribuye a la presencia de calcio (factor IV de la coagulación), que induce una gran opacidad cuando se observan en el microscopio electrónico. También contienen ATP y ADP que son fuentes de energía celular y serotonina (encargada de la vasoconstricción vascular).
- ◆ Lisosomas: de acuerdo con (Bermejo, E., 2017) *“Dentro de la plaqueta cumplen una función autofágica eliminando fragmentos citoplasmáticos”* (pág. 14). Al igual que en otras células, los lisosomas en su interior contienen enzimas hidrolíticas.

Las plaquetas, al carecer de ácidos nucleicos, son elementos que no se pueden reproducir. Sin embargo, poseen un complicado metabolismo que contiene enzimas muy variadas, de la glucólisis aeróbica, anaeróbica y del ciclo de Krebs. Las mitocondrias, son importantes ya que proporcionan la energía metabólica necesaria en su estado de activación. La fuente de energía principal es la glucosa sanguínea; la misma también se utiliza para sintetizar y utilizar grandes cantidades glucógeno. Por lo tanto, las plaquetas a diferencia de los eritrocitos, utilizan el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa para la obtención de energía en forma de ATP, que será almacenado en forma de gránulos.

Por último, en la zona membranosa de la plaqueta, la membrana celular se invagina formando un sistema de canales y canalículos. Varios autores como (Guzman y col., 2005) indican que *“El sistema canalicular abierto constituye una serie de canales abiertos hacia el espacio exterior que facilitan el proceso de secreción y permiten el acceso de sustancias hacia el interior de la plaqueta. Y el sistema tubular denso se forma de componentes del*



retículo endoplásmico del megacariocito y constituye el sitio principal de almacenamiento de calcio” (pág. 241). Ambas estructuras se forman por la invaginación de la propia membrana celular.

Hemostasia.

La hemostasia es definida según (Barrett, K. y col., 2013) como *“el proceso por el cual se forman coágulos en las paredes de los vasos sanguíneos dañados que impide la pérdida de sangre mientras esta se mantenga en estado líquido dentro del sistema vascular” (p.567).* Es decir, la hemostasia es un mecanismo de defensa dinámico y complejo: dinámico ya que es un constante equilibrio entre la formación de coágulos y su disolución, y complejo porque intervienen apropiadamente los vasos sanguíneos, las plaquetas, los factores de coagulación, el sistema fibrinolítico y los anticoagulantes naturales. La función principal de las plaquetas en este proceso es activarse cuando pasan por un endotelio dañado y agregarse, exhibiendo receptores de membrana y pseudópodos, para formar el tapón hemostático. Un desequilibrio en este complejo sistema puede generar enfermedades o trastornos en la sangre que son clínicamente visibles.

Este complejo sistema es fundamental para la vida y ha sufrido transformaciones desde las primeras etapas del desarrollo de las especies; en los invertebrados, el trombocito es el único protagonista del sistema y libera una sustancia denominada “coagulina”. En los vertebrados el sistema es mucho más complejo e implica varias fases (Ceresetto, J., 2017). La hemostasia no solo impide la pérdida de sangre en el sistema circulatorio, sino que también interviene en la defensa del organismo y participa en la remodelación del tejido dañado y en su revascularización.

El proceso para evitar la pérdida de sangre debe ser rápido, localizado y cuidadosamente regulado: un equilibrio adecuado en este sistema limitará tanto el sangrado como la formación patológica de trombos. Para poder comprenderlo y como método de estudio, procedo a dividir a la hemostasia en tres etapas, al igual que otros autores: hemostasia primaria, hemostasia secundaria y fibrinólisis. En síntesis, en la hemostasia primaria participan las plaquetas y los vasos sanguíneos; en la hemostasia secundaria los factores de la coagulación, mientras que la fibrinólisis o disolución del coágulo interactúan numerosas enzimas, como la plasmina.



Hemostasia Primaria.

Rápidamente, ante la rotura o corte/lesión de un vaso sanguíneo con extravasación de sangre, se inician una serie de mecanismos que son necesarios para reparar el daño. Los mecanismos que se incluyen en esta etapa principalmente corresponden a una respuesta vascular y una respuesta plaquetaria, muy relacionadas entre sí para un correcto funcionamiento. El objetivo de esta primera etapa es la formación de un trombo plaquetario, que, según el grado de lesión, será suficiente o no para contrarrestar la pérdida de sangre.

En la *fase vascular*, el trauma genera espasmo muscular en la pared del vaso sanguíneo en el sitio de la lesión, para reducir el flujo sanguíneo rápidamente, gracias a un mecanismo nervioso generado por dolor y a la liberación de factores que se producen en el endotelio dañado. En los vasos sanguíneos pequeños, los responsables de esta vasoconstricción son las plaquetas, que liberan tromboxano A₂ inmediatamente, serotonina y catecolaminas para una vasoconstricción más prolongada en lesiones mayormente complejas. También las células endoteliales, regulan el flujo sanguíneo mediante la secreción de vasoconstrictores (endotelinas, enzima convertidora de angiotensina, prostaglandinas y tromboxano A₂) y vasodilatadores como el óxido nítrico y la prostaciclina.

Histológicamente, los vasos sanguíneos constan de tres túnicas desde la luz hacia afuera: túnica íntima (compuesta por endotelio, lámina basal y subendotelio), túnica media y túnica adventicia. El epitelio plano simple o endotelio, que tapiza las paredes internas del vaso sanguíneo, desempeña un papel importante en esta etapa de la hemostasia: las propiedades funcionales de estas células cambian en respuesta a diversos estímulos. Este proceso se denomina activación endotelial, y son inductores de este mecanismo los antígenos bacterianos y víricos, las citoquinas, los componentes del sistema del complemento y la hipoxia. Cuando se activa, presenta moléculas de adhesión en la superficie y moléculas que controlan la coagulación de la sangre. Es decir, el endotelio lesionado es proagregante, debido a la liberación del factor activador de plaquetas, presente en la matriz subcelular. Por lo contrario, el endotelio sano o normal es antitrombótico, ya que no expresa estos factores que desencadenan la coagulación (Ross, M., 2016).



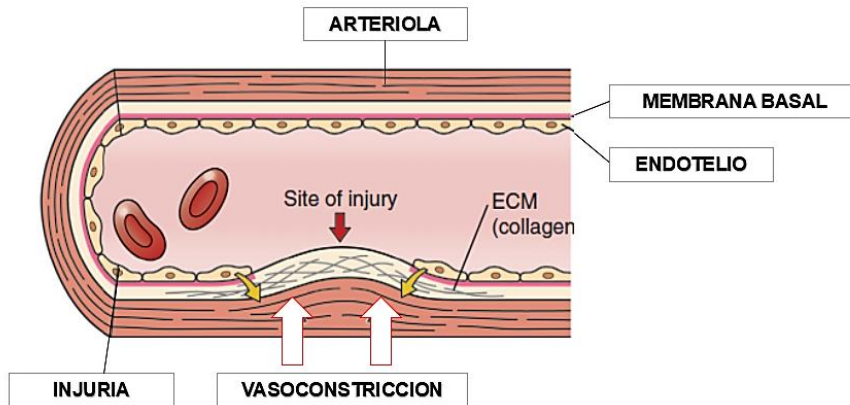


FIGURA N° 4: VASOCONSTRICCIÓN ARTERIOLAR. EXTRAÍDO DE (ZACHARY, J., 2016).

En cuanto a la *fase plaquetaria*, luego de la lesión vascular y la exposición a superficies extrañas, las plaquetas sufren una serie de procesos como adhesión, cambio de forma, secreción y agregación; estas transformaciones muy coordinadas culminan con la formación de un tapón plaquetario. A continuación, describiré estos procesos en forma ordenada, como método de estudio, pero no es posible organizarlos temporalmente debido a que las respuestas intracelulares son muy rápidas y se activan recíprocamente muchos factores:

- ◆ *Adhesión plaquetaria o iniciación:* las plaquetas se adhieren al endotelio dañado, gracias a la unión de glicoproteínas de membrana (GP I / IX / V) y moléculas de Von Willebrand (vWF) que se encuentra en el subendotelio unido al colágeno y es sintetizado por las células endoteliales y los megacariocitos.
- ◆ *Activación plaquetaria o extensión:* luego de la unión de las plaquetas a la matriz extracelular y al colágeno, se activa la fosfolipasa C (PLC) en la membrana plaquetaria, para la transducción de señales al interior de la célula. Esta enzima convierte a un fosfolípido de membrana, el fosfatidilinositol 4,5 fosfato (PIP2) en trifosfato de inositol (IP3) y 1,2 diacilglicerol (DAG). El IP3 difunde al interior de la célula para unirse a un receptor de los canales de calcio del sistema tubular denso, estimulando la liberación de iones calcio. El aumento de calcio intracelular estimula una serie de cascadas y eventos dentro de la célula. Además, los iones de calcio y DAG se unen y activan el factor de intercambio de nucleótidos de diacilglicerol guanina de calcio I que activa la Rap1 GTPasa; ésta promueve un cambio conformacional y la activación de la integrina GPII/III de modo que se une al fibrinógeno. También el calcio y el compuesto DAG activan las isoformas de la proteína quinasa C que fosforila a



otras moléculas. Esta suma de reacciones, dan como resultado la síntesis de tromboxano A_2 , el cambio de forma de las plaquetas, la activación de la integrina, secreción, agregación y actividad procoagulante. Por último, se activa la fosfolipasa A_2 , que estimula la hidrólisis de los fosfolípidos del sistema tubular denso, provocando la liberación de ácido araquidónico, que se convierte en tromboxano A_2 por la vía de la enzima ciclooxigenasa (Harvey, J. 2012).

- ◆ **Cambio de forma:** las plaquetas en reposo mantienen una forma discoide gracias a una extensa red de filamentos y microtúbulos debajo de la membrana. Luego de unirse al vWF y al colágeno, se activan las proteínas que componen este esqueleto y se reorganizan, cambiando su forma.
- ◆ **Secreción:** El contenido de los cuerpos densos y los gránulos, anteriormente mencionados, se descargan en el sistema canalicular abierto hacia afuera de la plaqueta, por mecanismos contráctiles. El ADP, serotonina y calcio liberados de los cuerpos densos, promueven aún más la agregación plaquetaria.
- ◆ **Agregación plaquetaria o perpetuación:** la acción de agonistas como el ADP, TxA_2 y trombina da como resultado mayor exposición y activación de glucoproteínas de membrana (receptores de superficie). Luego de su activación, sufren un cambio conformacional que las convierte en un receptor de gran afinidad para el fibrinógeno, que forma puentes entre plaquetas adyacentes, dando lugar a la agregación plaquetaria. El tapón plaquetario resultante, puede ser o no, suficiente para detener el sangrado.

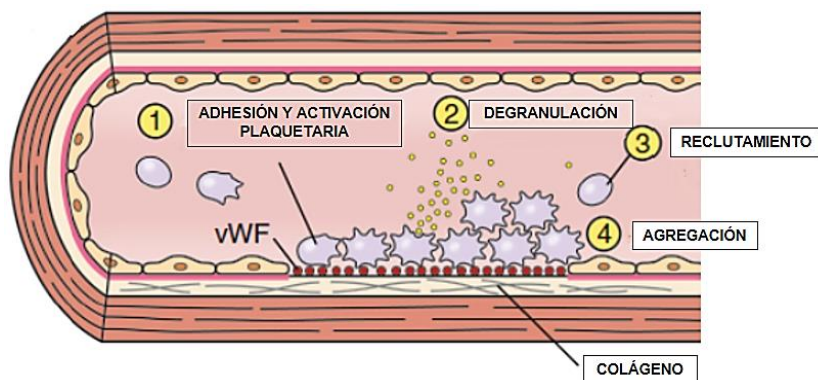


FIGURA N° 5: HEMOSTASIA PRIMARIA. EXTRAÍDO DE (ZACHARY J., 2016).



Hemostasia Secundaria.

En la hemostasia secundaria o coagulación, una serie de factores o enzimas interactúan entre sí, para formar hebras de fibrina sobre el tapón plaquetario temporario formado por las plaquetas anteriormente, constituyendo finalmente un coágulo o trombo definitivo más fuerte y disminuyendo la probabilidad de una nueva hemorragia. En esta serie de procesos, intervienen una serie de enzimas, sustratos y cofactores que aceleran la velocidad de reacción. Existen dos modelos propuestos para este proceso: uno más antiguo, el modelo de cascada y el modelo basado en las células que actualmente ha cobrado protagonismo. Ambos modelos coinciden en la serie de reacciones catalizadas por los doce factores de la coagulación presentes en la circulación sanguínea, pero se sabe actualmente que estas reacciones no ocurren en el torrente sanguíneo libremente, sino en la superficie de diversas células donde se encuentran los complejos enzimáticos.

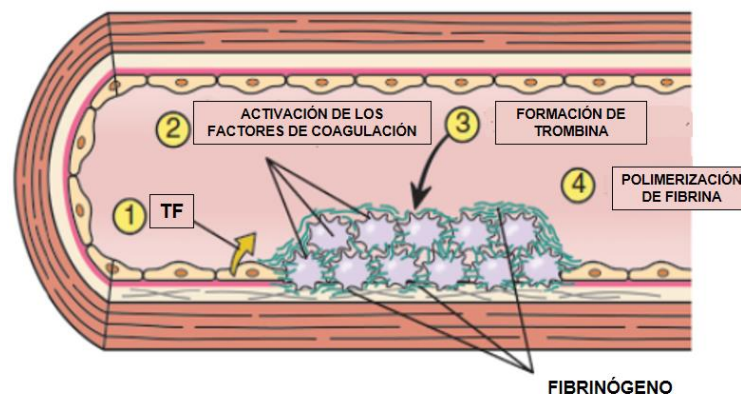


FIGURA N° 6: HEMOSTASIA SECUNDARIA. EXTRAÍDO DE (ZACHARY, J., 2016).

Los factores de la coagulación son proteínas sintetizadas en el hígado (excepto el calcio y el vWF) que circulan en sangre periférica en forma inactiva y se asignan con números romanos por orden de descubrimiento. Cuatro de estos factores (II, VII, IX y X) necesitan de la vitamina K para ser funcionales, ya que esta vitamina participa en la carboxilación de los residuos de ácido glutámico de estas proenzimas, a través de la enzima gamma glutamil carboxilasa, lo que permite (a través del calcio) la unión de estos factores a los fosfolípidos de las superficies celulares y de esta manera formar complejos enzimáticos. Por ejemplo, los anticoagulantes tipo dicumarol, que incluyen la warfarina principalmente, inhiben la vitamina K, por lo tanto, se sintetizan proteínas de la coagulación inactivas (Harvey, J., 2012).



Modelo de cascada enzimática.

El modelo clásico de la coagulación, fue descrito en 1964 por Davie y Ratnoff. Ambos consideraban a la coagulación, como una cascada enzimática con dos vías independientes: una vía intrínseca y una vía extrínseca, que luego se juntan para constituir una vía común que activa el factor X, convirtiendo la protrombina en trombina y así generando fibrina. En primer lugar, la vía extrínseca se activa por el factor tisular, cuando la pared vascular o el tejido sufren un traumatismo. El tejido lesionado libera un complejo de factores, denominado tromboplastina tisular, que se combina con el factor VII y en presencia de fosfolípidos y iones de calcio, activan el factor X. Este factor se combina con los fosfolípidos tisulares y con el factor V para formar un complejo denominado activador de la protrombina, que produce la ruptura de la misma, para generar trombina (Gómez, A. y col., 2011).

La vía intrínseca se inicia por la exposición de la sangre a una superficie cargada negativamente, es decir, el desencadenante se encuentra en el interior del vaso sanguíneo. Debido a esto, se activa el factor XII y se dañan las plaquetas, las cuales liberan fosfolípidos que contienen una lipoproteína llamada factor III plaquetario. El factor XIIa actúa sobre el factor XI para activarlo; cuando este se encuentra activo actúa enzimáticamente sobre el factor IX activándolo y este último junto con el factor VIII activan el factor X. De la misma manera que en la vía extrínseca, el complejo activador de la protrombina formado inicia la escisión de la protrombina para formar trombina.

Este modelo no es preciso desde un punto de vista fisiológico, aunque sí es útil para dividir la coagulación en componentes de forma organizada mediante dos vías, estudiar sus relaciones e interpretar las pruebas de diagnóstico que se realizan de las mismas. Tampoco le otorga importancia al papel que desempeñan las células participantes, en especial las plaquetas y estudia las vías de coagulación en forma independiente, sin interacción entre las mismas. Es decir, no explica los mecanismos que llevan a la hemostasia in vivo.

Modelo basado en superficies celulares.

Para abordar el fenómeno de la hemostasia desde otro punto de vista y para entender de mejor manera como funciona el sistema en vivo, en el año 2001 Hoffman y col. proponen en una revisión bibliográfica, un modelo que considera que las superficies celulares, son elementos esenciales para la formación de un coágulo/trombo y capaces de dirigir el proceso hemostático. Las superficies celulares de plaquetas, células endoteliales, fibroblastos y monocitos, proporcionan el área de ensamblaje de los complejos enzima/cofactor y permite



la interacción con los sustratos, formando así el coágulo de fibrina. El modelo indica que la coagulación ocurre en tres fases simultáneas en diferentes tipos celulares: iniciación, amplificación y propagación.

- ◆ *Iniciación:* La unión del factor tisular (FT) y el factor VII es esencial para el inicio de la coagulación. El factor tisular o iniciador, se expresa en la membrana celular de células extravasculares, como los fibroblastos y en estados inflamatorios se encuentra presente en la membrana de los monocitos y células endoteliales. Por lo tanto, en condiciones fisiológicas y en ausencia de lesión, este factor no se encuentra en contacto con el torrente sanguíneo por una cuestión de seguridad. Las células que contienen este factor (fibroblasto, miocito y macrófagos), cuando existe pérdida de integridad de un tejido, liberan este receptor a la sangre y se une con el factor VII, que circula de forma inactiva. El complejo así formado, activa los factores X y IX. El factor Xa o Stuart - Power en combinación con el factor V, es capaz de generar pequeñas cantidades de trombina, a partir de protrombina. La trombina generada, es insuficiente para formar las redes de fibrina definitivas.
- ◆ *Amplificación:* luego del daño vascular, como mencioné anteriormente al referirme del proceso hemostático primario, las plaquetas entran en contacto con la matriz extracelular (adhesión) mediante fVW, se activan y secretan el contenido de sus gránulos, al mismo tiempo que se agregan formando el tapón plaquetario; las plaquetas al activarse, comienzan a interactuar con los factores de la coagulación. Las pequeñas cantidades de trombina generadas por las células que expresan el factor tisular, amplifican la señal procoagulante y adhieren más plaquetas. Al mismo momento, retroalimenta de manera positiva el sistema de coagulación, activando los factores V, VIII y XI que se ensamblan en la superficie plaquetaria, promoviendo reacciones posteriores que generan más trombina. Dicho esto, podríamos decir que la amplificación sería una forma de prolongar la respuesta.
- ◆ *Propagación:* la acción catalizadora de los complejos “tenasa” (formado por factor VIIIa, IXa, calcio y fosfolípidos) y “protrombinasa” (formado por factor Xa, factor Va, calcio y fosfolípidos) en la superficie plaquetaria, convierte la protrombina en grandes cantidades de trombina. Este suceso se denomina “explosión de trombina” y es necesaria para la formación del coágulo estable de fibrina. La trombina formada a su vez, activa el factor XIII (estabilizador de fibrina) que forma enlaces covalentes, estabilizando el tapón plaquetario y a un inhibidor fibrinolítico, que genera la resistencia a la lisis hasta que el sangrado se detenga.



Fibrinólisis.

Como mencioné al comienzo de este capítulo, la hemostasia es un equilibrio dinámico que implica tanto la formación de coágulos como la destrucción de los mismos. La formación de coágulos de fibrina previene las hemorragias, pero es necesario que luego estos se eliminen para restaurar la fluidez de la sangre. En relación, un incremento en la lisis de los coágulos puede favorecer a la aparición de trastornos hemorrágicos, mientras que un defecto en este sistema puede predisponer a trombosis. Este proceso de destrucción, estrictamente regulado, se denomina fibrinólisis e implica la solubilización de los polímeros o tramas de fibrina, mediante la rotura de los enlaces peptídicos en la superficie del coágulo: aunque esta es su función principal, otros componentes de este sistema están involucrados en procesos de reparación de tejidos que exceden a los objetivos de esta revisión.

Los principales componentes del sistema fibrinolítico, son el plasminógeno y su forma activa, la plasmina. También los activadores del plasminógeno (activador tisular o t-PA y activador tipo uroquinasa o u-PA) e inhibidores del plasminógeno (antiplasmina, inhibidores de los activadores de plasminógeno PAIs e inhibidor de fibrinólisis activado por trombina TAFI).

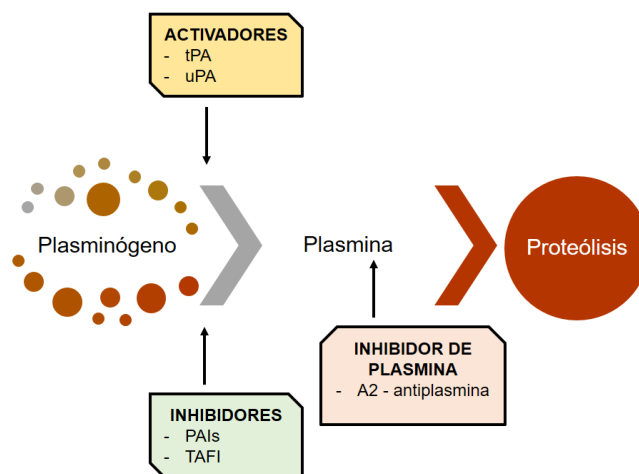


FIGURA N° 7: NIVELES DE REGULACIÓN DE LA FIBRINÓLISIS. FUENTE PROPIA.

En síntesis y para concluir con el estudio de la fisiología de la hemostasia, podríamos decir que este proceso se divide en dos etapas que ocurren casi simultáneamente: primaria y secundaria. La hemostasia primaria está integrada por la participación de los vasos sanguíneos y de las plaquetas; estas últimas son fundamentales en este proceso, ya que



sufren una serie de cambios necesarios para concluir con la formación del tapón hemostático primario. Para esto, deben adherirse a las fibras de colágeno del subendotelio vascular mediante receptores de membrana y al mismo tiempo sufrir un proceso de activación, en el cual mediante una cascada de reacciones se libera el calcio intracelular y por la vía de las ciclooxigenasas se genera tromboxano A₂. Estos cambios, estimulan el cambio de forma de las plaquetas; la secreción de sus gránulos y la actividad procoagulante que consiste en la perpetuación de la señal, para recluir un mayor número de plaquetas y frenar el sangrado.

Cuando el tapón plaquetario primario no es suficiente, se activan otros procesos más complejos en los que participan proteínas plasmáticas (factores de la coagulación), cofactores y enzimas que aceleran la velocidad de la reacción. Estos componentes son parte de la hemostasia secundaria, que consiste simplemente, en la formación de un coágulo o trombo en la pared del vaso sanguíneo, compuesto por hebras de fibrina y que disminuirá la posibilidad de una nueva hemorragia. Por último, en forma simultánea a la formación del coágulo, el mismo comienza a ser degradado o “limitado” por activadores e inhibidores, mediante la degradación de las hebras de fibrina. Este proceso es necesario para restituir la fluidez de la sangre.

Es importante destacar entonces, que la hemostasia es un proceso dinámico y complejo que incluye la coparticipación de la pared de los vasos sanguíneos, las plaquetas y los factores de coagulación. En relación a esto, una alteración en cualquiera de los componentes que participan en la coagulación sanguínea desencadenará un proceso denominado **diátesis hemorrágica**, que se define básicamente como la predisposición al sangrado o hemorragia por la ruptura en este equilibrio.



CAPÍTULO II: FISIOPATOLOGÍA DE LA TROMBOCITOPENIA.

El término trombocitopenia o plaquetopenia se refiere a la disminución del número absoluto de plaquetas o trombocitos en la circulación sanguínea; como mencioné en el capítulo anterior, el número de plaquetas circulantes varía de 200 a 500 x10³/ µl en caninos. Este trastorno, englobado dentro de los trastornos que afectan la hemostasia primaria, es una causa muy habitual de hemorragia en animales de compañía y pertenece a los trastornos cuantitativos plaquetarios, es decir que alteran el número o cantidad de estas células. A diferencia de los trastornos cualitativos, en los que el número de plaquetas se mantiene, pero están alteradas sus funciones.

Los trastornos cuantitativos plaquetarios, específicamente las plaquetopenias, pueden ser clasificadas según el mecanismo causante de esta disminución; la forma de clasificarlos presenta una ayuda para guiar la evaluación diagnóstica. Los mecanismos productores son la disminución de la producción plaquetaria, el aumento en la destrucción, el incremento del consumo y el aumento del secuestro plaquetario (Nelson y Couto 2010). Esta clasificación no es estricta, debido a que existen ciertas interrelaciones entre los mecanismos de producción; por lo tanto, otros autores realizan una diferenciación según sí, la causa es primaria o secundaria, si es un trastorno congénito o adquirido y también utilizan la clasificación trombocitopenia inmunomediada – no inmunomediada. Muchas veces, estos trastornos conllevan la etiqueta o el término “idiopático”; se les designa este nombre ya que la enfermedad ocurre sin una causa conocida o identificable.



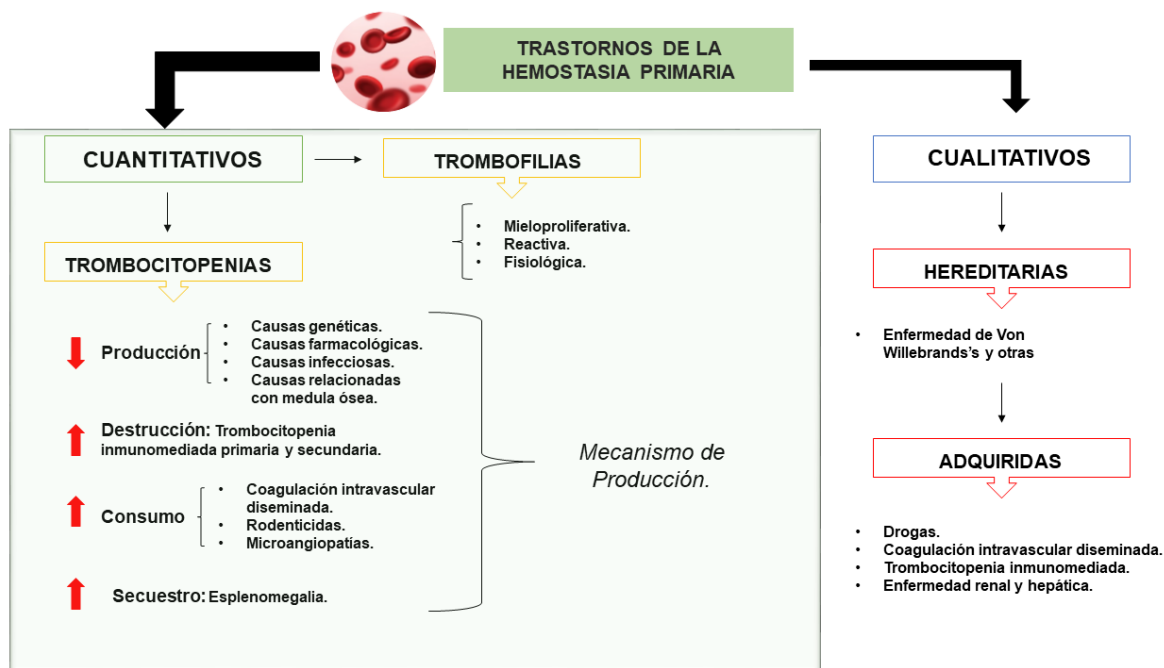


FIGURA N° 8: TRASTORNOS DE LA HEMOSTASIA PRIMARIA (MECANISMOS Y CAUSAS). FUENTE PROPIA.

Anamnesis y Hallazgos Clínicos.

Una anamnesis reciente y remota y una correcta aplicación del método clínico son imprescindibles para llegar a un diagnóstico presuntivo. Ante un paciente que presenta hemorragias espontáneas o excesivas, el clínico debería preguntar a los propietarios sobre cuestiones que podrían proporcionar pistas adicionales sobre la patogenia de la enfermedad como por ejemplo (Nelson y Couto 2010): sí ha tenido otros episodios de hemorragia anteriormente; sí otros animales de la misma camada presentan síntomas similares; sí ha recibido algún tratamiento recientemente y con qué drogas; sí ha tenido acceso a rodenticidas; consultar sobre su estado sanitario (vacunaciones, desparasitaciones); sí padece de otras enfermedades y solicitar estudios previos; sí ha viajado a otras provincias asociadas con enfermedades infecciosas que causen trombocitopenia y además si el animal sufrió algún trauma entre otras interrogaciones. Todas las pistas que nos brinda el encargado del paciente nos orientarán al examen clínico específico de diferentes órganos y sistemas.



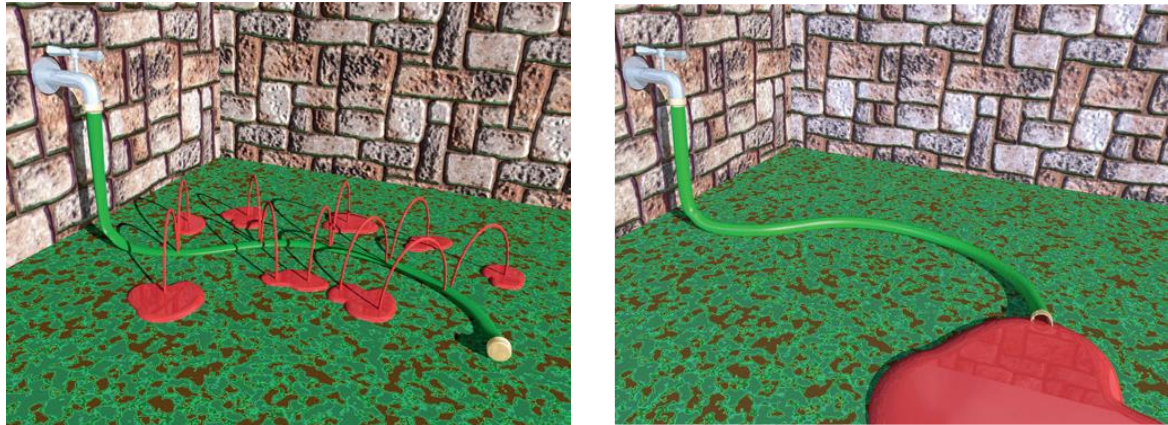


FIGURA N° 9: REPRESENTACIÓN ILUSTRATIVA DE HEMORRAGIA HEMOSTÁTICA PRIMARIA Y SECUNDARIA. EXTRAÍDO DE (COUTO, G., 2020); EN IMAGEN IZQUIERDA (PETEQUIAS, EQUIMOSIS) Y EN IMAGEN DERECHA (HEMATOMA O SANGRE EN UNA CAVIDAD).

Como consecuencia de un **defecto hemostático primario**, trombocitopenia específicamente, un animal no puede formar el tapón hemostático primario; este tapón, al ser de corta duración y que luego es cubierto por fibrina (gracias a los mecanismos hemostáticos secundarios) provocará sangrados cortos y múltiples si está ausente. Por lo tanto, este trastorno dará lugar a pequeñas hemorragias numerosas y superficiales, debido a que todos los tejidos necesitan de las plaquetas para su equilibrio hemostático. El paciente trombocitopénico puede presentar manifestaciones típicas de sangrado superficial (Tabla N° 1).

TIPO DE LESIÓN.	DESCRIPCIÓN.
<p data-bbox="421 1375 571 1406">Petequias.</p>  <p data-bbox="240 1827 746 1883">FIGURA N° 10: MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE FACEBOOK VC FORESTVILLE ANIMAL HOSPITAL.</p>	<p data-bbox="810 1529 1390 1659"><i>Pequeños puntos no mayores a dos milímetros o vulgarmente llamados “cabeza de alfiler”, con una coloración roja o púrpura.</i></p>



Equimosis.



FIGURA N° 11: MUCOSA PREPUCIAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.

Puntos hemorrágicos (flecha azul) de mayor tamaño que las petequias (flecha verde), y de forma irregular o difusa. Estas lesiones pueden medir hasta dos centímetros.

Púrpura.



FIGURA N° 12: MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.

Extravasación de sangre en los tejidos bajo la piel y a través de las membranas mucosas que produce equimosis y petequias.

Melena.



FIGURA N° 13: EXTRAÍDO DE DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES GASTROINTESTINALES, OLIVIER DOSSIN.

Oscurecimiento de las heces por hemorragia en el tracto digestivo superior (estómago, duodeno).



<p style="text-align: center;">Hematoquecia.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 14: EXTRAÍDO DE DIAGNÓSTICO DE ALTERACIONES GASTROINTESTINALES, OLIVIER DOSSIN.</p>	<p><i>Sangre en las heces, proveniente del tracto digestivo inferior.</i></p>
<p style="text-align: center;">Epistaxis.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 15: EPISTAXIS UNILATERAL. EXTRAÍDO DE LA WEB CLÍNICA SAN FRANCISCO.</p>	<p><i>Expulsión de sangre por la nariz, por lesión de vasos de la mucosa nasal, fragilidad capilar o tendencia hemorrágica. Si la sangre es roja y no presenta espuma, es proveniente de las vías respiratorias superiores, por el contrario, la sangre proveniente del pulmón es roja, algo clara y mezclada con burbujas de aire.</i></p>
<p style="text-align: center;">Hipema.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 16: HIPEMA CANINO. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.</p>	<p><i>Hemorragia en la cámara anterior del ojo.</i></p>

TABLA N° 1: LESIONES HEMORRÁGICAS SUPERFICIALES. FUENTE PROPIA.



El paciente trombocitopénico y hemorrágico, no sólo presentará las lesiones hemorrágicas anteriormente mencionadas, sino también otros signos clínicos sistémicos que por lo general son manifestados por el responsable del animal como letargo, debilidad, intolerancia al ejercicio y anorexia. Además, en el examen clínico podemos observar mucosas pálidas producto de la anemia producida por la pérdida de sangre constante, signos neurológicos y ceguera como consecuencia de hemorragias a nivel de sistema nervioso, taquipnea, taquicardia y soplo cardíaco; estos últimos también son producto de la anemia moderada a grave.

También podemos percatar, como hallazgo en la clínica, que un paciente con defectos hemostáticos luego de un procedimiento quirúrgico o una punción venosa no es capaz de detener el sangrado debido a la falta de plaquetas. Es por esto, que un perfil hemostático del paciente debería estar presente dentro de los exámenes prequirúrgicos para evitar el riesgo de hemorragias. Además, en el paciente podríamos observar, signos específicos de un trastorno o causa productora de la trombocitopenia, como por ejemplo la fiebre en las enfermedades infecciosas y otras manifestaciones que serán desarrolladas posteriormente. Por lo contrario, existen pacientes de razas determinadas, que poseen un conteo disminuido de plaquetas, pero sin signología clínica.

Luego de desarrollar una anamnesis y un examen físico detallados, utilizaremos los métodos complementarios para corroborar o apoyar los resultados obtenidos. Los métodos complementarios utilizados para esta patología, los desarrollaré en el capítulo siguiente. Mientras tanto, a continuación, realizaré una reseña bibliográfica de los diferentes mecanismos y causas productoras de trombocitopenia en caninos.

Trombocitopenia Por Disminución En La Producción Plaquetaria.

Causas Genéticas.

En cuanto a causas genéticas productoras de trombocitopenia, se puede incluir aquí, la raza canina *Cavelier King Charles Spaniels* que presenta un trastorno plaquetario benigno de tipo autosómico recesivo. Esto quiere decir que, para que un paciente desarrolle esta enfermedad, cada progenitor debe aportar un gen anormal a su descendencia. Este tipo de trastorno se origina por una mutación en el gen B1- túbulina, causando la formación anómala de proplaquetas. Es decir, se forman plaquetas sin un desarrollo completo y de un mayor



tamaño denominadas macrotrombocitos. Por este motivo la enfermedad se denomina macrotrombocitopenia hereditaria. A pesar de tener recuentos levemente disminuidos de estas células, los animales de esta raza, cursan la enfermedad asintómicamente sin presentación de hemorragias.

También, otro tipo de trastorno plaquetario de tipo autosómico recesivo, es el síndrome del *Collie gris* o neutropenia cíclica. Como su nombre lo indica, genera una disminución crítica en el número de neutrófilos, que predisponen al animal a la infección por agentes bacterianos y se repite cada dos a diez días. Se ha visto que también, puede disminuir el número de plaquetas sanguíneas, provocando posibles sangrados (Cugliari, N., 2015).

Causas Relacionadas Con Drogas.

Muchas de las drogas utilizadas en terapéutica generan efectos tóxicos en la médula ósea (mielotoxicidad), dañando las células hematopoyéticas o actuando como haptenos, produciendo la destrucción secundaria de plaquetas por el sistema inmunitario (Harvey, J., 2012). Estos son efectos adversos en la clínica diaria y los mismos dependen tanto de la dosis, como el tiempo en el que son utilizadas; generalmente los efectos adversos desaparecen luego de terminar o retirar el tratamiento (Narayanan, P. y col., 2019).

Se puede incluir aquí a los agentes quimioterapéuticos utilizados contra el cáncer, que pueden causar depresión de médula ósea, especialmente melfalán, lomustina y carboplatino. En estos pacientes, los nadires hematológicos generalmente se presentan entre la primera y la quinta semana de iniciado el tratamiento; estas drogas inhiben mitóticamente a las células precursoras de la médula ósea, los megacariocitos. Según Couto, la trombocitopenia causada por quimioterápicos no suele ser tan grave como para determinar hemorragias espontáneas. Por lo general el recuento de plaquetas se mantiene por encima de 50.000/ μ l (las hemorragias espontáneas no suelen ocurrir hasta que los recuentos de plaquetas están por debajo de 30.000/ μ l). Aunque ciertos protocolos que incluyen fármacos como melfalán y lomustina están asociados a recuentos plaquetarios por debajo de 50.000/ μ l.

También, los estrógenos tanto si son utilizados como tratamiento o cuando son secretados por un tumor de células de Sertoli, son tóxicos para la médula ósea pudiendo ocasionar discrasias sanguíneas comúnmente en animales añosos y a los cuales se les administraron dosis altas de esta hormona (Plumb, D., 2006).

Además, se ha reportado que, antimicrobianos de uso cotidiano y seguro, como las cefalosporinas y sulfonamidas generan efectos secundarios. Estos efectos son alteraciones



hematológicas como la anemia hemolítica, trombocitopenia, neutropenia, pancitopenia y aplasia de glóbulos rojos. En una serie de estudios realizados en perros a los que se administró vía intravenosa dos cefalosporinas de segunda generación, se demostró que el fármaco causaba anemia, neutropenia y trombocitopenia luego de uno a tres meses de tratamiento. Otras observaciones del estudio reportadas evidencian que existe un componente inmunomediado en estas patologías por la aparición tardía de las citopenias, un periodo corto de inducción tras la reexposición al fármaco, daño en la membrana de eritrocitos, hemólisis y aumento de la hemofagocitosis en médula ósea, hígado y bazo (que se evidencian través de estudios citológicos) (Bloom, J. y col., 1988).

Así pues, los fármacos actúan a nivel de diversos mecanismos que incluyen la mielosupresión, formación de haptenos, cambios estructurales de las proteínas, inducción de autoanticuerpos, apoptosis plaquetaria y activación inmunitaria (Narayanan y col. 2019). Por lo tanto, no podrían ser solo englobados solamente dentro de causas que produzcan la disminución de la producción plaquetaria, ya que actúan en varios niveles.

Causas Infecciosas.

En cuanto a enfermedades infecciosas, los microorganismos que afectan la médula ósea, pueden alterar la producción plaquetaria por infección directa de megacariocitos (mieloptisis) o por una respuesta inmune en contra de estos precursores. También pueden generar una respuesta inflamatoria con producción de citocinas que son mielosupresoras (Weiss, D., 2010). Al igual que los fármacos, las causas infecciosas actúan a través de diversos mecanismos que producen trombocitopenia.

La causa infecciosa más reconocida en estos momentos y una de las más frecuentes, que alteran la producción plaquetaria a nivel de médula ósea, es la Ehrlichiosis canina. *Ehrlichia canis* es una bacteria intracelular obligada, gramnegativa, de forma cocobacilar pleomórfica que mide 0,5 micrómetros de diámetro y se encuentra dentro de los leucocitos (monocitos y macrófagos). Esta bacteria es transmitida por *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata marrón del perro, que ingiere larvas y ninfas de un animal infectado a través de la picadura. De esta manera, al subir a otro hospedador, inoculan la bacteria en un individuo sano. También puede haber propagación iatrogénica por transfusiones sanguíneas (Greene, C., 2008). Las garrapatas que no están infectadas, deben alimentarse de un canino infectado en fase aguda de la enfermedad para infectarse y perpetuar la enfermedad (Couto, G., 2010).

En cuanto a la prevalencia de Ehrlichiosis, *Ehrlichia canis* presenta una distribución mundial; en argentina ha sido reportada en caninos de Ciudad Autónoma de Buenos Aires



(CABA) y alrededores; además en ciertas regiones de la provincia de Formosa (Borras, P. y col., 2019). En el año 2019 se describió el primer caso de Ehrlichiosis en la provincia de Santa Fe, en la ciudad de Rafaela (Tarragona, E. y col., 2019).

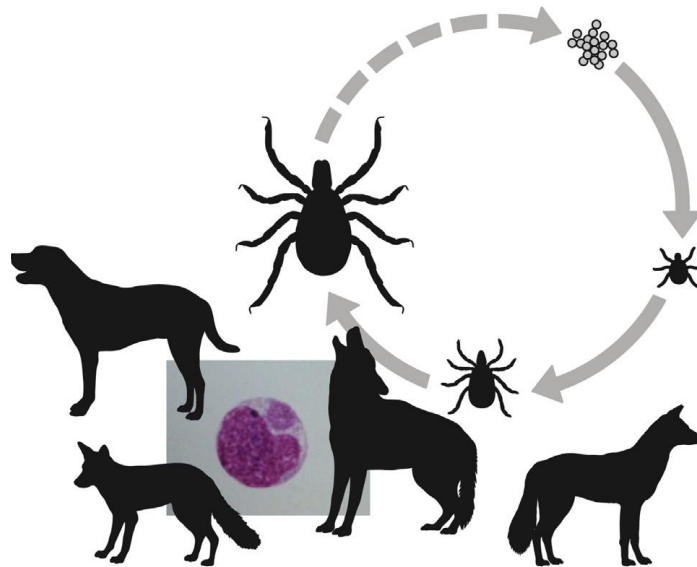


FIGURA N° 17: CICLO DE VIDA DE EHRlichIA CANIS. MÓRULA DENTRO DEL CITOPLASMA DE UN MONOCITO EN FROTIS SANGUÍNEO. EXTRAÍDO DE (SYKES, J., 2014).

El curso de la enfermedad se divide en fase aguda, subclínica y crónica; en cada fase, existen una gran diversidad de signos clínicos y hematológicos. En cuanto a los signos clínicos se pueden incluir aquí, en primer lugar, signos multisistémicos como depresión, letargia, pérdida de peso, anorexia, tendencias hemorrágicas (petequias dérmicas y equimosis), epistaxis, linfadenomegalia y esplenomegalia. También signos oculares como cambios de color o apariencia de los ojos, ceguera, uveítis anterior y enfermedad retinal. Hay que mencionar también, la posible presencia de signos neuromusculares como consecuencia de meningitis por inflamación y/o hemorragia del tejido nervioso; el animal en este caso puede presentar convulsiones, estupor, ataxia, anisocoria, temblores intencionales e hiperestesia.



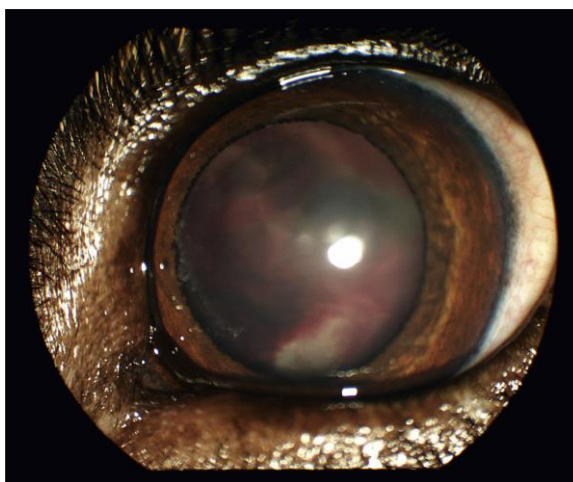


FIGURA N° 18: HEMORRAGIA RETINAL EN CANINO. EXTRAÍDO DE (SYKES, J., 2014).

Es importante aclarar que, animales en fase aguda que no fueron tratados se instauró un tratamiento en forma inadecuada, pueden comenzar a transitar la fase subclínica de la enfermedad en la cual se los ve saludables, pero son portadores del microorganismo. Dentro de los signos o hallazgos hematológicos, la trombocitopenia es la anomalía hematológica más común, sin importar en qué fase de la enfermedad se encuentre el animal. La disminución en la producción plaquetaria, se produce principalmente en una etapa crónica de la enfermedad a consecuencia de una médula ósea hipoplásica de carácter reversible o irreversible (Greene, C., 2008). En esta enfermedad, la trombocitopenia es un signo cardinal producido por diversos mecanismos como la formación de inmunocomplejos, producción de anticuerpos antiplaquetarios, secuestro de plaquetas en el bazo y por consumo de las mismas por alteraciones vasculares en la fase aguda (Borras, P., recuperado 6 de abril 2021).

Otra enfermedad infecciosa, causante de trombocitopenia y que puede estar asociada con la anterior es la Hepatozoonosis canina; la misma es causada por un protozooario denominado *Hepatozoon canis* que se encuentra dentro de los neutrófilos y monocitos de los vertebrados en forma de microgametos y macrogametos. Es transmitida por *Rhipicephalus sanguineus* que ingiere el microorganismo al alimentarse de sangre de un canino infectado. Para que un canino se infecte, debe ingerir las garrapatas; en el intestino se liberan los esporozoítos infestando fagocitos mononucleares, células endoteliales, hígado, músculos, bazo, pulmones y médula ósea y luego el protozooario invade los leucocitos convirtiéndose en gamontes. Esta enfermedad de tipo crónico induce inflamación piogranulomatosa crónica e inmunocompleja. Generalmente la trombocitopenia es inusual, pero es frecuente cuando se produce una coinfección con *Ehrlichia canis*. También es frecuente la leucocitosis neutrofílica con desviación a la izquierda y la anemia normocítica-normocrómica y no regenerativa por inflamación crónica. Entre los signos clínicos, comúnmente pueden presentar fiebre, pérdida



de peso, hiperestesia grave, anorexia, mucosas pálidas, descarga oculonasal y diarrea con sangre (Couto, G., 2010).

Causas Relacionadas Con La Médula Ósea.

Como mencioné en el capítulo anterior, las plaquetas se originan a partir de los megacariocitos presentes en médula ósea y en menor medida en el pulmón. Las causas de disminución en la producción plaquetaria pueden ser debido a la alteración en estas células precursoras, pero por lo general son trastornos que también afectan otras líneas celulares hematopoyéticas (Weiss, D., 2010). Entre los trastornos más frecuentes podemos mencionar hipoplasia o aplasia de médula ósea, mielotoxicidad por fármacos, alteraciones inmunomediadas, enfermedades infecciosas como la Ehrlichiosis, necrosis, mielofibrosis – esclerosis, mieloptisis, mielodisplasia, aumento del secuestro o destrucción celular, alteraciones inmunomediadas, sepsis, coagulación intravascular diseminada, hemangiosarcoma y esplenomegalia (Couto, G., 2010).

Con respecto a la hipoplasia medular, se considera que la médula ósea es hipocelular cuando menos del 25% del espacio está formado por células hematopoyéticas a diferencia de una médula ósea aplásica, en la que los precursores están reducidos o ausentes. Las causas de este trastorno generalmente son desconocidas, pero se han reportado casos de hipoplasia asociados frecuentemente a la administración de fármacos como griseofulvina, cloranfenicol, estrógenos, fenilbutazona y agentes quimioterapéuticos. También, microorganismos infecciosos como *Ehrlichia canis*, provocan hipoplasia medular en la fase crónica de la enfermedad; las infecciones por *parvovirus* en cachorros caninos pueden provocar hipoplasia eritroide y mieloide, aunque la trombocitopenia puede ser leve o estar ausente. También se han informado casos de hipoplasia en caninos con esplenomegalia y hematopoyesis extramedular marcada en los que se especula que el bazo podría haber producido inhibidores celulares o humorales en la producción de células sanguíneas (Harvey, J., 2012).

La mieloptisis o infiltración de médula ósea con otros tipos celulares, como células neoplásicas o inflamatorias, provoca el desplazamiento de los precursores hematopoyéticos normales y consecuentemente citopenias en sangre periférica. Estas células invasoras pueden derivar del propio sistema hematopoyético (leucemias, mieloma múltiple, linfomas) o proceder de metástasis periféricas. Por ejemplo, las **leucemias** son neoplasias malignas que se originan en médula ósea a partir de los precursores; las mismas pueden clasificarse en linfoides o mieloides. Este tipo de neoplasia es infrecuente en caninos, no así en felinos. Por



lo contrario, los **linfomas** son tumores malignos de los linfocitos muy frecuentes en caninos, originados en órganos sólidos como nódulos linfáticos, hígado y bazo. La etiología es multifactorial y los signos clínicos dependen de la forma anatómica de presentación (multicéntrica, mediastínica, digestiva y extranodal). La más frecuente en caninos, es la forma multicéntrica que presenta signos clínicos no específicos como fiebre, letargia, pérdida de peso y anorexia (Couto, G., 2010). Por lo tanto, este tipo de tumor puede invadir la médula ósea y provocar citopenias en sangre periférica.

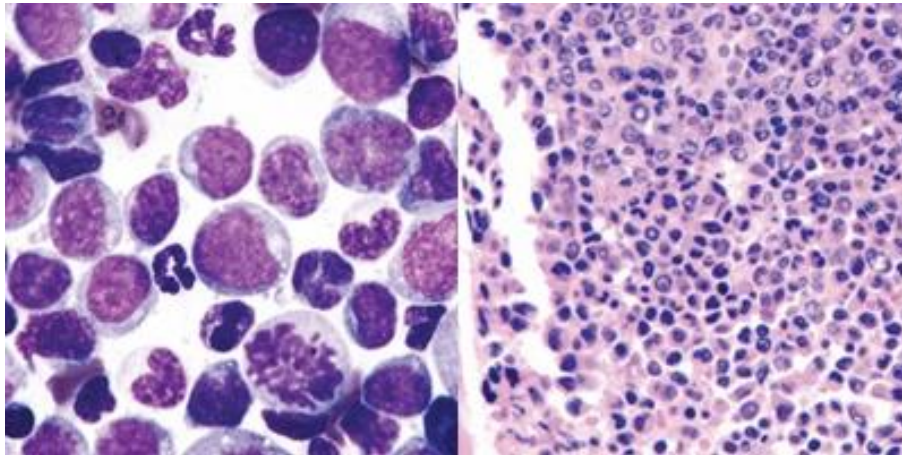


FIGURA N° 19: LINFOMA METASTÁSICO EN LA MÉDULA ÓSEA DE UN CANINO. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J.,2012).
A; frotis de aspirado de médula ósea se observan linfoblastos y una célula mitótica (tinción Wright – Giemsa). B; infiltrado de linfoblastos en una biopsia de médula ósea de un canino (tinción H y E).

Trombocitopenia Por Aumento En La Destrucción Plaquetaria.

Trombocitopenia Inmunomediada (TIM).

La trombocitopenia inmunomediada o autoinmune, se trata de un conjunto de síntomas o síndrome clínico producido por la destrucción acelerada de plaquetas mediada por anticuerpos. Es la causa más habitual de hemorragia espontánea en caninos y se clasifica como primaria o secundaria (Couto, G., 2010). En un estudio realizado en 61 perros trombocitopénicos, se determinó que: el 57% tenían trombocitopenia inmunomediada primaria, el 28% trombocitopenia inmunomediada secundaria debido a neoplasia linfoide/mieloide (9,8%), enfermedad infecciosa (9,8%) enfermedad hepática (5%), exposición a fármacos (3%) y el 15% restante aplasia de médula ósea (Levine, D., 2019).



Esta enfermedad específica de la sangre, al igual que otras como la anemia hemolítica autoinmunitaria, el pénfigo foliáceo y la miastenia gravis son reacciones que están incluidas dentro de lo que se denomina hipersensibilidad tipo II. El término “hipersensibilidad”, se refiere a un estado de actividad alterada en el cual un organismo reacciona con una respuesta inmune exagerada, inapropiada y dañina contra un antígeno que puede ser inocuo. Las enfermedades autoinmunes, surgen cuando células del sistema inmunitario, como los linfocitos T o los anticuerpos autorreactivos, dañan los tejidos como resultado de reacciones de hipersensibilidad (Tizard, I., 2018). Hoy en día se sabe, que la destrucción de plaquetas no está dada solamente por mecanismos humorales, sino que también las células T (citotóxicas) desempeñan un papel central.

Particularmente, la hipersensibilidad de tipo II es un conjunto de reacciones citotóxicas mediadas por anticuerpos de tipo inmunoglobulinas M o inmunoglobulinas G, que reconocen antígenos presentes en las superficies celulares por pérdida de la tolerancia con células autólogas. Esto quiere decir que, al haber un constante reemplazo de los linfocitos T y linfocitos B a lo largo de la vida, deben existir mecanismos de control que eviten la expansión de los clones autorreactivos; cuando estos puntos de control fallan, se produce el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias (Gorman, N., 1986). Por lo tanto, si los anticuerpos se dirigen frente a las plaquetas, se generará trombocitopenia. En este tipo de hipersensibilidad, se produce la unión de los anticuerpos IgG e IgM a moléculas específicas de la superficie de las plaquetas; estos complejos inmunes activan mecanismos citotóxicos humorales y celulares, produciendo la destrucción de las mismas por los macrófagos en el sistema reticuloendotelial. El sitio diana de la formación de estos complejos inmunes pueden ser antígenos normales de las células expuestos por diversos motivos, agentes infecciosos unidos a la superficie celular o agentes biológicos, como los fármacos (Couto, G., 2010).

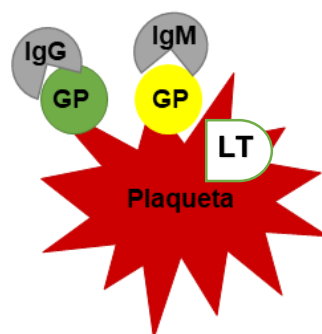


FIGURA N° 20: REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD TIPO II. FUENTE PROPIA.
Unión de IgM, IgG y LT (linfocitos T) a GP (glicoproteínas).



Para el desarrollo de la enfermedad, existen factores que predisponen a la pérdida de la tolerancia de las células inmunitarias; entre ellos se encuentran las causas genéticas, las predisposiciones raciales, las influencias hormonales, la edad y otras enfermedades. Es decir, las enfermedades inmunomediadas poseen causas multifactoriales. Por ejemplo, dentro de las causas ambientales, podemos mencionar la exposición a agentes infecciosos (infección natural o vacunación), las toxinas ambientales y la exposición a los fármacos. También, es importante incluir dentro de las causas que pertenecen al ambiente, la alimentación actual que muchas veces es subestimada pero que juega un rol crucial en la expresión de muchas enfermedades y en la alteración del genoma de las células de nuestros pacientes. Básicamente, los alimentos que proveen al genoma de “señales negativas” activan genes relacionados con la enfermedad y se denominan alimentos no funcionales; por el contrario, se encuentran los alimentos funcionales que proveen “señales positivas” y activan genes relacionados con la buena salud (Dodds, J., 2015). Entonces podríamos decir que *“lo que comemos o comen nuestros animales influye en cómo se expresan nuestros genes”*.

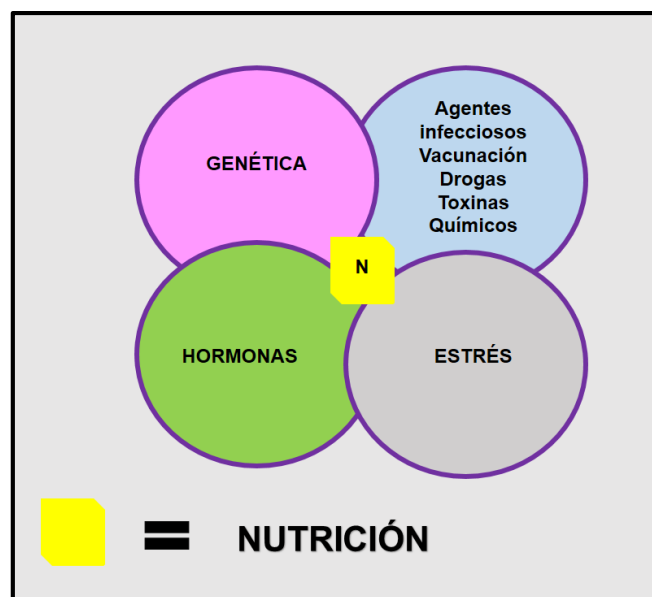


FIGURA N° 21: ROL DE NUTRICIÓN EN LA ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES. EXTRAÍDO DE (DODDS, J., 2015 – CANINE NUTRIGENOMICS).

La predisposición genética y la predisposición racial también influyen en la autoinmunidad. En cuanto a los genes, los que mayormente influyen en las enfermedades autoinmunes son los que pertenecen al complejo mayor de histocompatibilidad ya que determinan la resistencia o susceptibilidad a muchas enfermedades. El tipo de raza de los animales domésticos también es un factor que predispone a desarrollar enfermedades autoinmunes sanguíneas, como los caninos de la raza viejo pastor inglés; una raza al ser



creada por medios artificiales de selección y cruzamientos dirigidos, conduce en muchos casos a la endogamia y la falta de diversidad genética, que en primer lugar permite la expresión de genes autosómicos recesivos perjudiciales y ocasiona la pérdida de polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad. Por lo tanto, las razas artificialmente creadas y manipuladas por el hombre, responden a un rango extremadamente limitado de antígenos (Tizard, I., 2018).

Como mencioné anteriormente, la trombocitopenia inmunomediada se clasifica en primaria y secundaria. En pocas palabras, en la primaria o autoinmunitaria verdadera, los anticuerpos se dirigen contra las plaquetas por un defecto en la regulación inmunitaria; y en la secundaria, esta destrucción inmunitaria se produce por una causa subyacente que describiré a continuación.

Trombocitopenia inmunomediada primaria (autoinmune).

La genética tiene un papel importante en el desarrollo de estas enfermedades; la TIM primaria se diagnostica con mayor frecuencia en caninos de raza *Cocker Spaniels*, *Caniches Toy*, *Viejo Pastor Inglés*, *Golden Retrievers* y *Pastor Alemán*. La edad de presentación varía de ocho meses a quince años, con una mediana de seis años; resulta rara en felinos. En este tipo de trastorno, no se puede identificar una causa subyacente, siendo el origen de la enfermedad una disfunción o desequilibrio del sistema inmunitario (Couto, G., 2010).

Sin un agente causal incitante, se produce una trombocitopenia aislada (recuento menor a $100 \times 10^9/L$) que puede ser acompañada de otros trastornos de múltiples linajes como el síndrome de Evans (anemia hemolítica inmunomediada), neutropenia inmunomediada o lupus eritematoso sistémico. Poco común en caninos y raro en otras especies, en este tipo de trastorno se produce un aumento de la fagocitosis de las plaquetas, por medio de anticuerpos (principalmente IgG e IgM) o linfocitos T citotóxicos, dirigidos a los antígenos plaquetarios normales; por ejemplo, las glicoproteínas IIb y/o IIIa son antígenos diana en algunos caninos con esta enfermedad (Harvey, J., 2012).

Al no haber un agente causal externo que produzca la fagocitosis plaquetaria, el diagnóstico de esta enfermedad se realiza por exclusión o se confirma por métodos de diagnóstico que revelan la presencia de anticuerpos antiplaquetarios en sangre periférica; los tests pueden no reconocer la presencia de estos anticuerpos, cuando estamos frente a una trombocitopenia mediada por células T o citotóxicas. Otra forma de confirmar esta enfermedad, es el diagnóstico en base al tratamiento; a través de la administración de drogas



que se utilizan en el tratamiento, como los glucocorticoides combinados o no con inmunosupresores; una respuesta positiva (disminución de los signos clínicos, aumento en el número de plaquetas) confirmaría el diagnóstico.

Trombocitopenia inmunomediada secundaria.

El término TIM secundaria se utiliza cuando se puede identificar una causa subyacente responsable de la inducción de los anticuerpos antiplaquetarios; ejemplos de causas secundarias de autoinmunidad son infecciones, exposición a fármacos y toxinas, neoplasias, vacunación, transfusiones incompatibles y otras enfermedades inmunomediadas (Couto, G., 2010). Es decir, este tipo de trastorno surge como consecuencia de un proceso subyacente inflamatorio o neoplásico que provoca la unión inespecífica de IgG o IgM a las plaquetas con la consecuente destrucción extravascular y opsonización en el bazo.

Además de la Ehrlichiosis canina productora de anticuerpos antiplaquetarios, la **Leishmaniosis** también puede incluirse dentro de las enfermedades infecciosas que producen destrucción de plaquetas en forma inmunomediada. Este protozoo intracelular (se encuentra dentro de los macrófagos) induce respuestas inmunes extremas, gammapatías policlonales, proliferación de macrófagos y linfocitos en órganos linforeticulares (Nelson y Couto 2010). La forma no flagelada o amastigote presente dentro de las células posee una forma ovoide con 2,5 a 5 μm de largo y 1,5-2 μm de ancho; este protozoo es transmitido a través de la picadura de mosquitos a un huésped sano en forma de promastigote que son fagocitados por los macrófagos y se multiplican en su interior como amastigotes; esta proliferación dentro de la célula genera la destrucción de la misma, diseminándose por el organismo y penetrando en otras. La forma visceral de la enfermedad es generalmente crónica y provoca la proliferación las células B productoras de anticuerpos, en lugar de los linfocitos T; esta proliferación provoca linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia e hiperglobulinemia. Además, pueden producirse autoanticuerpos que se asocian con fenómenos patológicos como la anemia hemolítica y la trombocitopenia. Con respecto a lo último, los perros podrían desarrollar diátesis hemorrágica (especialmente epistaxis) debido a la generación de autoanticuerpos, rebalsamiento esplénico, supresión de médula ósea, inhibición de la función de los trombocitos y úlceras nasales. Otros hallazgos clínicos son la intolerancia al ejercicio, pérdida de peso, diarrea y vómitos, epistaxis y melena, estornudos y tos (Greene, C., 2008).

Con respecto a enfermedades inmunomediadas, podemos mencionar el **lupus eritematoso sistémico** que se trata de un proceso inmunitario multisistémico y hereditario



(hipersensibilidad tipo II y tipo III) en el cual los pacientes desarrollan autoanticuerpos frente a antígenos localizados en el núcleo celular; los autoanticuerpos dirigidos a las plaquetas inducirán trombocitopenia (Tizard, I., 2018). El daño inmunológico en múltiples órganos genera una gran variedad de signos clínicos entre los que se incluyen fiebre, cojera, inflamación articular, manifestaciones dermatológicas, fallo renal, pérdida de peso, vómitos, poliuria y polidipsia. Además de alteraciones hematológicas como la trombocitopenia, también puede generar anemia hemolítica, aplasia eritrocitaria o leucopenia. Las razas mayormente predispuestas son el *Pastor Alemán*, *Pastor Shetland*, *Border Collie*, *Beagles* y *Caniches* (Couto, G., 2010).



FIGURA N° 22: MANIFESTACIONES DERMATOLÓGICAS FRECUENTES EN CANINO CON LUPUS. EXTRAÍDO DE (CORNEJO, C., 2015).

La trombocitopenia inmunomediada luego de una **transfusión sanguínea**, también se produce por una reacción de hipersensibilidad de tipo II. Como se mencionó anteriormente este tipo de hipersensibilidad se trata de reacciones citotóxicas mediadas por anticuerpos IgM o IgG que reconocen antígenos presentes en superficies celulares; los complejos inmunes activan mecanismos citotóxicos humorales y celulares. Si el antígeno involucrado se encuentra en la superficie de células sanguíneas, los complejos inmunes pueden activar el mecanismo de fagocitosis y provocar la lisis de plaquetas. El daño celular se produce en individuos previamente sensibilizados que se exponen al antígeno; aquí radica la importancia de los estudios de compatibilidad sanguínea.



Trombocitopenia Por Incremento Del Consumo Plaquetario.

Coagulación Intravascular Diseminada (CID).

La CID es una alteración o proceso patológico complicado y dinámico, en el cual se estimula constantemente el sistema de la coagulación y como consecuencia se genera trombosis orgánica múltiple en la microcirculación sistémica. Además del depósito de fibrina en forma exagerada en los vasos sanguíneos de la microvasculatura, también se produce la fibrinólisis secundaria que también es excesiva. Por lo tanto, esta alteración en el equilibrio hemostático, desborda la capacidad de control del organismo produciendo grandes cantidades de trombina (trombosis) y a su vez, de plasmina (fibrinólisis).

Este trastorno siempre se asocia con una causa subyacente que provoca la liberación sistemática del factor tisular y la generación de citocinas proinflamatorias, es decir es secundario a otras enfermedades. Las condiciones que pueden inducir una coagulación excesiva son (Harvey, J., 2012):

- ◆ Septicemia.
- ◆ Viremia.
- ◆ Protozoarios.
- ◆ Lesión tisular marcada (golpe de calor, trauma y procedimientos quirúrgicos).
- ◆ Hemólisis intravascular.
- ◆ Complicaciones obstétricas.
- ◆ Malignidad (hemangiosarcoma, carcinomas, leucemia, linfoma).
- ◆ Shock traumático.
- ◆ Enfermedad hepática.
- ◆ Pancreatitis.
- ◆ Dilatación vólvulo – gástrica.
- ◆ Toxinas (veneno de serpiente e insectos, insecticidas).

La mayoría de las enfermedades anteriormente mencionadas, activan la coagulación en forma directa, produciendo factor tisular endógeno que interactúa con el factor VII iniciando la coagulación o en forma indirecta al causar daño endotelial con liberación o exposición del factor tisular a la sangre. Como ejemplo, en las enfermedades infecciosas los microorganismos pueden estimular la exposición de este factor presente en los monocitos y en células endoteliales; también las células neoplásicas expresan el factor tisular cuando se encuentran en contacto con la sangre y también puede exponerse el mismo ante un trauma o procedimientos quirúrgicos por la lesión endotelial directa (Day, M., 2012). Los pacientes



con pancreatitis y daño orgánico, presentan estimulación de las vías de coagulación debido a que la necrosis de los órganos favorece este proceso. En cuanto a las complicaciones obstétricas, el tejido placentario es una gran fuente de tromboplastina tisular que activaría la cascada de la coagulación (Barrientos, M., 2010).

Entonces, la patogénesis de la CID se basa principalmente en una exageración de los mecanismos hemostáticos normales. Como mencioné en el primer capítulo, al desarrollar la fisiología de la hemostasia, ocurren varios sucesos secuencialmente en forma simultánea y dinámica:

- ◆ En primer lugar, se forman los tapones hemostáticos primarios y secundarios: esto tiene lugar en muchos vasos sanguíneos pequeños a la vez, formándose múltiples trombos en la microcirculación. Aquí, se consumen y destruyen plaquetas y factores de la coagulación.
- ◆ A su vez, el sistema fibrinolítico activado sistémicamente en forma simultánea a la coagulación, provoca la lisis del coágulo y la lisis de los factores de coagulación.
- ◆ Luego la antitrombina y otras proteínas denominadas anticoagulantes naturales, se consumen intentando detener la coagulación intravascular.

Por lo tanto, estamos frente a un paciente con trombosis orgánica múltiple, pero con hemorragias paradójicas de forma espontánea por el agotamiento de plaquetas (la trombocitopenia puede ser grave con un recuento medio de 55 a 109 plaquetas por litro) y factores de la coagulación. Los tejidos mal perfundidos desarrollan también potenciadores secundarios de la coagulación como lo son la hipoxia, acidosis, alteración hepática – renal y pulmonar. Esta disfunción múltiple es la responsable de las manifestaciones clínicas.

La CID puede presentarse en forma crónica silente (subclínica) o aguda (fulminante). En la forma aguda, el paciente presenta hemorragia profusa espontánea y manifestaciones relacionadas con la anemia o la trombosis en distintos órganos. La hemorragia se presenta en forma superficial con petequias, equimosis y hemorragia de mucosas por afectación de la hemostasia primaria, y con sangre contenida en cavidades corporales como afección de la hemostasia secundaria (Couto, G., 2010). Además, los trombos presentes en la circulación, generan la isquemia de tejidos u órganos y por lo tanto la disfunción de los mismos.



Envenenamiento Con Rodenticidas.

El envenenamiento con rodenticidas en caninos es muy frecuente y requiere de un tratamiento de urgencia; dentro de los rodenticidas podemos incluir a los derivados cumarínicos como la warfarina que es un anticoagulante. La misma actúa en forma indirecta interfiriendo en la acción de la vitamina K en la síntesis de los factores de coagulación II, VII, IX, X y por lo tanto habrá déficit de los mismos (Plumb, D., 2006). Esta intoxicación puede ser una de las causas de trombocitopenia en el paciente, si bien se desconoce el mecanismo exacto, puede estar relacionada al consumo de las plaquetas por hemorragias excesivas. Por lo general el recuento de plaquetas en esta situación es moderado ($50 - 150 \times 10^9$ /litro) aunque también puede llegar a ser grave con un recuento menor a 50×10^9 /litro (Day, M., 2012).

La mayoría de los caninos intoxicados presentan colapso agudo y son comunes la tos, dolor torácico y disnea. Las manifestaciones clínicas son compatibles con hemorragias debido a alteraciones en la hemostasia secundaria, como hematomas o hemorragia en el interior de las cavidades, principalmente tórax (Couto, G., 2010). Otros signos clínicos comunes son la hemoptisis, el sangrado de encías, epistaxis, hematuria, hipema, sangrado conjuntival, petequias y equimosis.

Microangiopatías.

Las microangiopatías o enfermedad microangiopática, son alteraciones del endotelio en vasos sanguíneos pequeños que genera la consecuente agregación plaquetaria y activación de la coagulación, formando trombos en las arterias. Recordemos que el endotelio consta de tres túnicas: principalmente, la túnica íntima se encuentra en contacto con la sangre y posee un tipo de epitelio plano simple o también denominado endotelio, que desempeña funciones importantes en la hemostasia debido a que las propiedades funcionales de sus células se activan o cambian en respuesta a diversos estímulos. El endotelio que sufre una lesión, se encuentra activado y por lo tanto es proagregante por la liberación de un factor que activa las plaquetas.

Uno de los principales causantes de lesión endotelial es el **hemangiosarcoma** en caninos. Se trata de una neoplasia maligna procedente del endotelio vascular, con origen en bazo, aurícula derecha del corazón, tejido subcutáneo, hígado u otros órganos como riñón, vejiga y huesos. Este tumor maligno es muy agresivo e infiltrativo y provoca metástasis en etapas muy tempranas de la enfermedad; las manifestaciones clínicas varían según el lugar



de origen y si hay o no presencia de metástasis. El paciente puede presentar distensión abdominal por el crecimiento tumoral y hemoperitoneo; por lo general los caninos con hemangiosarcoma se presentan por signología de insuficiencia cardiaca congestiva derecha (por taponamiento cardíaco u obstrucción de vena cava posterior por neoplasia) o por arritmias cardíacas. También si el tumor es de ubicación cutánea, el motivo de consulta más frecuente es un bulto. Además, independientemente de la ubicación del tumor, existen dos problemas habituales: la anemia y las hemorragias espontáneas. La anemia se produce por hemorragias intracavitarias o por hemólisis microangiopática; y las hemorragias suelen estar causadas por CID o trombocitopenia secundaria a hemólisis (Couto, G., 2010).



FIGURA N° 23: HEMANGIOSARCOMA CON LOCALIZACIÓN EN BAZO CANINO. EXTRAÍDO DE LA WEB DIAGNÓSTICO VETERINARIO.

Otra causa de lesión endotelial, es el “gusano del corazón” denominado *Dirofilaria Immitis*. En Argentina, la Dirofilariasis canina se extiende en once provincias (Salta, Formosa, Chaco, Misiones, Corrientes, Entre Ríos, Santa Fe, Santiago del Estero, Córdoba, Mendoza y Buenos Aires) y hay evidencias que sugieren que existen las condiciones climáticas adecuadas en el norte de la Patagonia para su ciclo de vida (Cazaux y col., 2019). El ciclo de este parásito consiste en la transmisión por la picadura de mosquitos que actúan como huéspedes intermediarios; el mosquito ingiere las microfilarias (que son larvas que circulan en la sangre de un animal infectado) las cuales se desarrollan hasta larvas infectantes, que mediante la picadura se transmiten a un animal sano. Al encontrarse dentro de los vasos sanguíneos, las células endoteliales comienzan con hinchazón, engrosamiento e incremento de la permeabilidad; los desprendimientos endoteliales conducen a la adhesión de células blancas y plaquetas (Nelson y Couto 2010). Por lo tanto, la activación endotelial por daño en sus células, desencadena el inicio de la cascada de la coagulación y como consecuencia la formación de trombos en el interior de los vasos sanguíneos.



Trombocitopenia Por Incremento Del Secuestro Plaquetario.

Esplenomegalia.

Como mencioné en el primer capítulo, el rol del bazo en el metabolismo plaquetario es muy relevante ya que puede reconocer y eliminar las plaquetas y otras células sanguíneas de la circulación sanguínea. En condiciones normales, el bazo contiene desde un 30% a 40% de la reserva total de las plaquetas y el agrandamiento del mismo puede resultar en un mayor secuestro plaquetario, con la consecuente trombocitopenia (Day, M., 2012).

La esplenomegalia se define como el aumento del tamaño del órgano en forma difusa o en forma localizada: la forma localizada se refiere a una masa esplénica (origen tumoral o no tumoral) y la forma difusa al agrandamiento por la proliferación de células normales o infiltrativas normales o anómalas. Los animales con esplenomegalia manifiestan anorexia, pérdida de peso, debilidad, distensión abdominal, vómitos, diarrea, poliuria, polidipsia, hemorragias espontáneas y mucosas pálidas (Couto, G., 2010).

Mecanismos de esplenomegalia	Tipo	Causas
Congestión.	Difusa.	Torsión esplénica, hipertensión portal, fármacos anestésicos (tranquilizantes y barbitúricos).
Hiperplasia o hipertrofia por trabajo.	Difusa.	Ehrlichiosis, endocarditis bacteriana, lupus eritematoso sistémico, discospondilitis, Brucelosis, AHÍ, TIM.
Esplenitis.	Difusa o nodular (abscesos).	Enfermedades infecciosas o parasitarias.
Neoplasias.	Difusa/nodular.	Hemangiosarcoma, hemangioma, sarcomas o carcinomas metastásicos, linfomas.
Hematopoyesis extramedular.	Difusa.	Anemia, TIM infiltración neoplásica del bazo, hipoplasia de médula ósea, congestión esplénica.



TABLA N° 2: TIPOS Y CAUSAS DE ESPLENOMEGALIA. FUENTE PROPIA, BASADO EN (COUTO, G., 2010).



CAPÍTULO III: ENFOQUE DIAGNÓSTICO Y TERAPÉUTICA.

Enfoque Diagnóstico.

Además de la ejecución de una anamnesis presente y remota del paciente y un detallado examen clínico, los análisis de laboratorio son otro componente en la evaluación a nivel sistémico y de la hemostasia particularmente. Los resultados proporcionados, son utilizados por el Médico Veterinario como una herramienta que cuando se combina con la historia clínica del paciente, el examen físico y otros hallazgos, ayudan a formar un posible diagnóstico y pronóstico de la enfermedad; es decir, un resultado de laboratorio debe interpretarse como una pieza de un rompecabezas en el diagnóstico que debe “ensamblarse” junto con otras piezas del mismo. Otras piezas del rompecabezas utilizadas, además de las ya mencionadas, son las técnicas de diagnóstico por imagen (radiografías, ecografías), biopsia de médula ósea y pruebas serológicas.

En este capítulo desarrollaré las técnicas laboratoriales y otros métodos complementarios utilizados en el diagnóstico de un paciente con trastornos en la hemostasia primaria, particularmente trombocitopenia y las alteraciones en los mismos según el agente causal incitante. También mencionaré algunos estudios utilizados para la emisión de un diagnóstico más específico o confirmativo.

Análisis Clínicos.

Independientemente de la técnica o laboratorio utilizado para cualquier prueba diagnóstica, la obtención de resultados confiables comienza con la adecuada recolección y manipulación de muestras. La obtención de una muestra de sangre, entre otros factores, se encuentra dentro de lo que denominamos “fase preanalítica” y un error en la misma alterará los resultados de las pruebas diagnósticas, ya que una técnica inapropiada puede introducir tromboplastina tisular a la muestra y activar la coagulación, brindando resultados erróneos. Debido a esto, los médicos veterinarios que son los encargados de ejecutar esta técnica, deben estar entrenados para un correcto procedimiento.

Para la correcta obtención de muestras de sangre, necesitaremos una serie de instrumentos como jeringas estériles y descartables (3 a 5 ml) y agujas estériles y descartables de diámetro 21G. También tubos comerciales descartables, de los cuales existe



gran variedad que se reconocen por el color del tapón que contienen, pero los que más utilizaremos son:

- ◆ Tubos de EDTA (Ácido etilen diamino tetracético): Contienen tapón violeta y se lo utiliza en pruebas de hematología ya que es un buen preservador celular y morfológico.
- ◆ Tubos de citrato: Contienen tapón azul y es utilizado en pruebas de coagulación (tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activada).

Además, son necesarios los elementos para preparar la zona de venopunción como una máquina para rasurar, algodón y alcohol para la asepsia y un manguito de goma para ingurgitar la vena. Por último, si la muestra debe ser transportada a un laboratorio necesitaremos cajas de telgopor con refrigerantes.

En primer lugar, se rasura y se procede a la asepsia de la zona en la cual realizaremos la extracción. En caninos, las venas más utilizadas para la extracción de sangre son la vena cefálica antebraquial en miembros anteriores, vena safena en miembros posteriores o en caninos de talla chica utilizamos la vena yugular ubicada en la región del cuello. En segundo lugar, es imprescindible el buen posicionamiento y la sujeción del paciente, por lo tanto, debemos designar un ayudante encargado de esta actividad. Luego de ingurgitar la vena, procederemos a la venopunción: la mejor forma de penetrar el vaso sanguíneo es en lateral al mismo; la succión con la jeringa debe realizarse en forma lenta para evitar la lisis de las células y el vacío de los vasos sanguíneos (“efecto pared”). Por último, trasvasaremos la sangre recolectada a uno de los tubos seleccionados con anticoagulante y haremos movimientos rotatorios de muñeca para homogeneizar la muestra. Mientras tanto, un ayudante hará presión suave en el sitio de extracción para favorecer la hemostasia primaria. El tiempo que transcurre entre la obtención de la muestra y su procesado no debería ser más de tres horas, pero puede conservarse 24 horas en forma refrigerada sin congelar (Arauz, M. y col., 2020).





FIGURA N° 24: POSICIONAMIENTO DEL PACIENTE. EXTRAÍDO DE LA WEB HOGARMANIA (IMAGEN IZQUIERDA) Y WEB ELTIEMPO (IMAGEN DERECHA).

El estudio inicial de un paciente que presenta sangrado espontáneo, debería iniciar con la realización de hemograma completo, perfil hemostático básico y bioquímica sanguínea. Si bien, aunque sospechemos de un defecto de la hemostasia primaria como causa de sangrado espontáneo luego de evaluar el paciente y de realizar una anamnesis detallada, debemos realizar siempre una revisión de la hemostasia completa para descartar causas como una coagulación intravascular diseminada u otro trastorno que pueda poner en riesgo la vida del animal.

En segundo término, la evaluación del paciente comprende estudios y pruebas que se utilizan para especificar o determinar las causas de este trastorno, es decir, llegar a un diagnóstico etiológico. Aquí se incluyen los métodos complementarios como el diagnóstico por imágenes, la punción de médula ósea y los estudios serológicos.

HEMOGRAMA.

El hemograma completo es un análisis de sangre que mide las células sanguíneas. El estudio incluye los siguientes parámetros: hematocrito, recuento de glóbulos rojos, recuento de glóbulos blancos, dosaje de la concentración de hemoglobina, índices hematimétricos y frotis sanguíneo. Este estudio de la sangre puede realizarse en forma tradicional/manual o con la utilización de métodos automatizados, que últimamente están cobrando importancia en Medicina Veterinaria.





FIGURA N° 25: CONTADOR HEMATOLÓGICO. FUENTE PROPIA.

La importancia de este análisis en un paciente trombocitopénico, radica en que las primeras sospechas de este trastorno, puede provenir de un hemograma completo. Así mismo, esta prueba debe ser la primera en realizar en un animal que se sospeche de tener un trastorno hemorrágico. Si bien el recuento de plaquetas pertenece a lo que denominamos “perfil hemostático básico”, en los métodos automatizados el recuento de plaquetas, el volumen medio y el ancho de distribución se incluyen dentro del hemograma. A modo de mención:

- ◆ Volumen plaquetario medio (VPM): estima el tamaño de las plaquetas y es inversamente proporcional al número de las mismas. Se expresa en fentolitros; los aumentos del volumen pueden estar asociados a una respuesta a la trombocitopenia o a trastornos mieloproliferativos. La disminución en el volumen está frecuentemente asociada a insuficiencia de la médula ósea o a trombocitopenias inmunomediadas.
- ◆ Ancho de distribución de plaquetas: representa un índice de variación en el tamaño de las plaquetas. Puede ser útil en laboratorios que no realizan frotis de forma rutinaria. También es útil para diferenciar entre una trombocitopenia hiperdestruccion (inmunomediada) e hipoproductiva (aplasia medular).
- ◆ Trombocrito: se utiliza para evaluar la masa total de plaquetas circulantes y es el porcentaje de volumen de sangre que se compone de plaquetas. El valor esperado es menor al 1%.



Si bien, los métodos automatizados son gran avance para el laboratorio veterinario, en este capítulo describiré las técnicas realizadas en forma manual ya que son de mayor alcance para la mayoría de los Médicos Veterinarios y expresaré las variables que pueden estar presentes en un animal que presenta trombocitopenia causada por los mecanismos descritos en el capítulo anterior.

Hematocrito.

El hematocrito es una prueba sencilla de realizar y rápida que brinda información valiosa sobre el porcentaje de sangre ocupado por hematíes; en esta prueba se produce la separación de la sangre no coagulada contenida en un tubo en tres capas (la capa inferior está compuesta por los hematíes, la capa media por leucocitos y plaquetas y la capa superior la ocupa el plasma). Para esta técnica el equipo necesario es una microcentrífuga de 10.000 rpm, tubos capilares y arcilla para sellarlos y un lector de hematocrito (ábaco). Luego de haber extraído la muestra, es importante homogeneizar la sangre en un tubo de EDTA. Seguidamente llenamos el microcapilar por capilaridad hasta las dos terceras partes, sellamos el tubo con arcilla o con calor y lo colocamos en la microcentrífuga con el extremo sellado en el borde exterior por cinco minutos. Luego para su lectura, alineamos la base de la sangre del tubo con el número cero del ábaco y la parte inferior del menisco del plasma con el 100 y efectuamos la lectura en porcentaje.

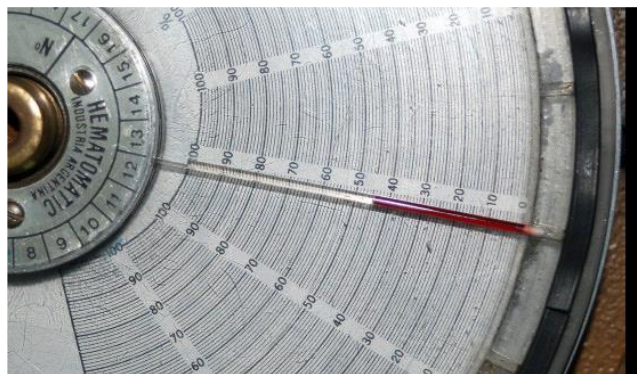


FIGURA N° 26: LECTURA DE MICROHEMATOCRITO EN ÁBACO. EXTRAÍDO (ARAUZ, M. Y COL., 2020).

El valor normal para caninos es 45% con un intervalo de referencia de 37 a 55 según el paciente en cuestión. Además, con la realización del hematocrito podemos evidenciar un aumento del grosor de la capa de glóbulos blancos y plaquetas que podemos verificar seguidamente en el recuento celular. También podemos observar cambios en el color del



plasma como el aspecto lechoso por hiperlipidemia; aspecto rojizo por aumento en la hemólisis y por último el aspecto amarillento por posible ictericia. Una disminución del porcentaje de hematíes, indica la presencia de anemia que deberíamos comparar con otros elementos de la sangre, los sólidos totales, que se miden a través de un refractómetro (proteínas totales).

Glóbulos rojos.

Generalmente, por mayor utilidad y mayor confianza, este método lo reemplazamos por la realización de un hematocrito debido a que el recuento de glóbulos rojos implica mucho tiempo para una persona no experimentada y está muy sujeto a contener mayor margen de error. De todas maneras, lo describiré en forma simplificada: básicamente, luego de la extracción de sangre contenida en tubos de EDTA, la misma debe ser diluida 1/200 con líquido de conteo (solución fisiológica). El conteo se realiza en cámara de Neubauer modificada específicamente en el retículo central que consta de 400 cuadrados pequeños, reunidos en 16 cuadrados más pequeños. Por lo tanto, luego de colocar el cubrecámara debemos cargar la cámara por capilaridad y dejar reposar un minuto para lograr la sedimentación de los hematíes. Luego del conteo se realiza un cálculo que expresa los eritrocitos contenidos en un microlitro de sangre.

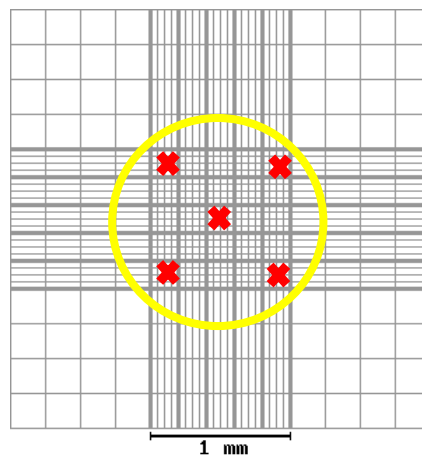


FIGURA N° 27: RETÍCULO DE THOMA, CONTEO DE ERITROCITOS. EXTRAÍDO DE LA WEB INSILICO, MODIFICADO PARA ESTE TRABAJO.

En un paciente trombocitopénico, probablemente el valor de los eritrocitos se encuentre disminuido (Valor normal en caninos 5.500.000 – 7.900.000/ mm³). Un valor



disminuido de los mismos (denominado anemia), debería verificarse con la realización de los índices hematimétricos, para determinar la posible naturaleza de esta alteración.

Índices hematimétricos.

Estos índices se calculan mediante ecuaciones que utilizan las determinaciones como el recuento de glóbulos rojos, hematocrito y el % de hemoglobina. Entre ellos se encuentran el volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración media de hemoglobina corpuscular media (CMHb). Estos índices, junto con la realización de un hematocrito nos permiten profundizar en los distintos tipos de anemia y las posibles causas de su producción ya que, por ejemplo, con la determinación del VCM podemos determinar si la anemia es normocítica, microcítica o macrocítica. También, la determinación de CMHb nos indica si la anemia es de tipo normocrómica, hipocrómica o hiperocrómica.

CAUSAS DE TROMBOCITOPENIA	TIPOS DE ANEMIA
Macrotrombocitopenia hereditaria <i>(Cavelier King Charles Spaniels).</i>	Normal.
Administración de fármacos.	Anemia hemolítica macrocítica/hipocrómica.
Causas infecciosas. <ul style="list-style-type: none"> ● Ehrlichiosis. ● Hepatozoonosis. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Anemia no regenerativa normocítica/normocrómica. ● Anemia no regenerativa por inflamación crónica.
Alteración de médula ósea. <ul style="list-style-type: none"> ● Hipoplasia/aplasia. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Anemia no regenerativa, normocítica/normocrómica.



<ul style="list-style-type: none"> ● Mieloptisis (linfoma). 	<ul style="list-style-type: none"> ● Anemia no regenerativa, normocítica/normocrómica.
<p>Trombocitopenia inmunomediada.</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Primaria. ● Secundaria. 	<p>Anemia hemolítica macrocítica/hipocrómica inmunomediada.</p>
<p>Coagulación intravascular diseminada.</p>	<p>Anemia hemolítica macrocítica/hipocrómica.</p>
<p>Microangiopatías (hemangiosarcoma).</p>	<p>Anemia hemolítica o anemia regenerativa por pérdida de sangre (macrocítica/hipocrómica)</p>
<p>Esplenomegalia.</p>	<p>Dependiendo la causa.</p>

TABLA N° 3: TIPOS DE ANEMIA SEGÚN EL AGENTE CAUSAL DE TROMBOCITOPENIA. FUENTE PROPIA.

Glóbulos blancos.

De igual manera que el conteo de glóbulos rojos, puede realizarse en forma manual (cámara de Neubauer) o automatizada. En la forma manual, utilizaremos una muestra de sangre homogeneizada con EDTA y realizaremos la dilución 1/20 con solución de Turk (ácido acético glacial y azul de metileno). Esta solución provoca la hemólisis de los glóbulos rojos por el ácido acético y tiñe los gránulos leucocitarios con azul de metileno. Luego de realizar la dilución, se procede a cargar la cámara y a diferencia del conteo de eritrocitos, aquí contaremos los leucocitos en los lugares que indica la siguiente figura.



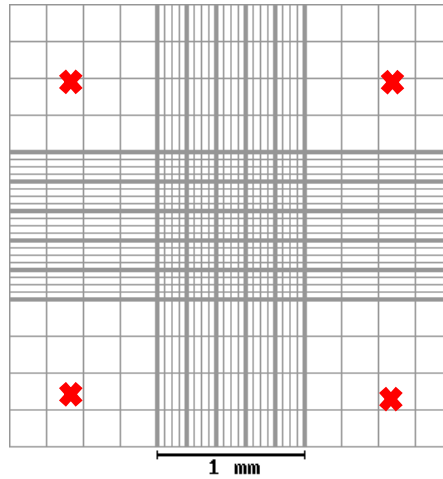


FIGURA N° 28: CONTEO DE GLÓBULOS BLANCOS. EXTRAÍDO DE LA WEB INSILICO, MODIFICADO PARA ESTE TRABAJO.

Luego de realizar el conteo en estos 4 cuadrados, se procede al siguiente cálculo: n° (número de leucocitos contados), 20 (dilución), 10 (corrección profundidad de cámara) y 4 indica el total de cuadrados contados. El resultado es el número de leucocitos por microlitro o milímetro cúbico de sangre.

$$\frac{n^{\circ} \times 20 \times 10}{4} = n^{\circ} \times 50$$

En la especie canina, el valor normal de leucocitos es 6.000 a 18.000 por microlitro de sangre: un aumento se denomina leucocitosis y una disminución, leucopenia. En un paciente que presenta trombocitopenia, podemos percatar alteraciones en el recuento de leucocitos que están relacionadas con la causa o mecanismo productor de la misma. Por ejemplo, podrían estar alterados en las siguientes cuestiones:

- ◆ *Enfermedades infecciosas:* en la Ehrlichiosis Canina, se ha documentado leucopenia como resultado de la hipoplasia de médula ósea y se ha observado linfocitosis (recuentos entre 5200 y 17.200 células/ μ l). En Hepatozoonosis canina, el recuento leucocitario es normal cuando la parasitemia es baja y elevado cuando la parasitemia es alta (puede darse neutrofilia extrema hasta 100.000 neutrófilos/ μ l de sangre) (Greene, C., 2008).
- ◆ *Administración de fármacos:* por ejemplo, la neutropenia inducida por la quimioterapia es muy común, al igual que otras citopenias. El nadir de la neutropenia suele



presentarse a los 5-7 días tras el tratamiento y estos pacientes deben ser monitorizados para detectar el desarrollo de posibles infecciones.

- ◆ *Alteraciones de médula ósea:* en casos de hipoplasia/aplasia o mieloptisis, el recuento de leucocitos se encontrará disminuido al igual que otras células (pancitopenia). Las alteraciones en la composición de médula ósea se evaluarán en los aspirados celulares, pero la pancitopenia es un gran indicio de afectación de médula ósea.
- ◆ *Coagulación intravascular diseminada:* En esta patología puede presentarse neutrofilia y raramente neutropenia (Couto, G., 2010).
- ◆ *Microangiopatías:* en un paciente con hemangiosarcoma, dentro de los hallazgos hematológicos se incluyen la leucocitosis con neutrofilia y monocitosis (Couto, G., 2010).
- ◆ *Esplenomegalia:* Los cambios pueden ser por un proceso inflamatorio sistémico (leucocitosis con neutrofilia y monocitosis).

FROTIS SANGUÍNEOS.

Seguidamente de homogeneizar una muestra de sangre con el anticoagulante (EDTA), se coloca una gota sobre un portaobjetos limpio y seco y con un extensor en un ángulo de 45° por delante de la gota, se lo hace retroceder hasta tocar la gota y luego se extiende firmemente hacia adelante y arriba. Se deja secar y se procede a la coloración: la más utilizada es la coloración May Grunwald Giemsa. Luego, se lleva al microscopio y se observa con una gota de aceite de inmersión con el objetivo 100X en el cual podremos observar la morfología celular (eritrocitos, plaquetas, leucocitos) y realizar el recuento diferencial de los leucocitos. Además, se pueden notar alteraciones de tamaño y color y presencia de microorganismos como los hemoparásitos (Arauz, M. y col., 2020).



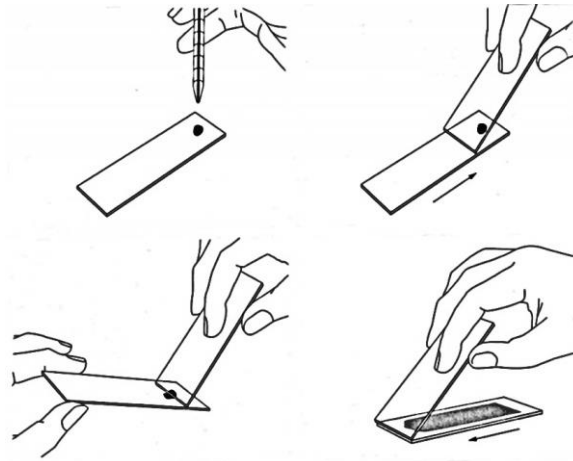
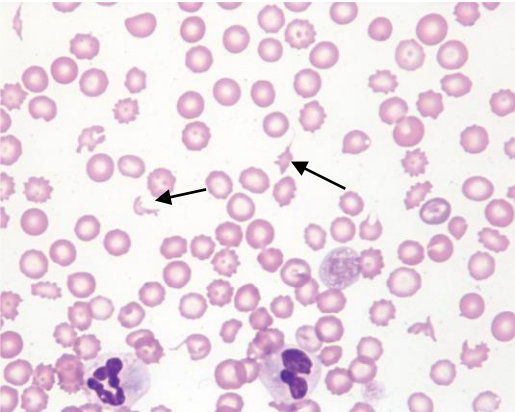


FIGURA N° 29: TÉCNICA PARA REALIZAR UN FROTIS SANGUÍNEO. EXTRAÍDO DE LA WEB RESEARCHGATE.

Alteraciones eritrocitarias: Es fundamental la observación del tamaño y la morfología de los eritrocitos debido a que, en presencia de algunas alteraciones, puede diferir y ciertos cambios de forma son muy característicos en algunas enfermedades. Por ejemplo:

<p style="text-align: center;">Esquistocitos.</p>  <p>FIGURA N° 30: ESQUISTOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).</p>	<p>Frecuentes en pacientes con hemangiosarcoma o coagulación intravascular diseminada, como consecuencia de la anemia hemolítica microangiopática. Son más pequeños que un glóbulo rojo normal y poseen extremidades puntiagudas (Valenciano y col., 2014).</p>
--	---



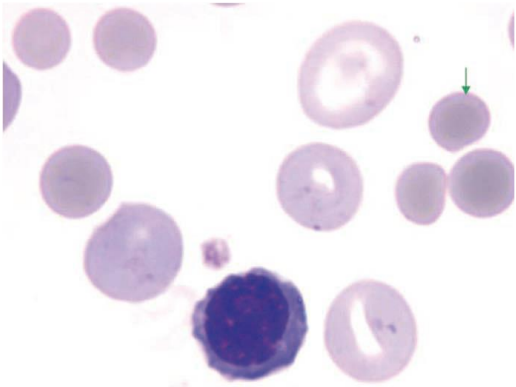
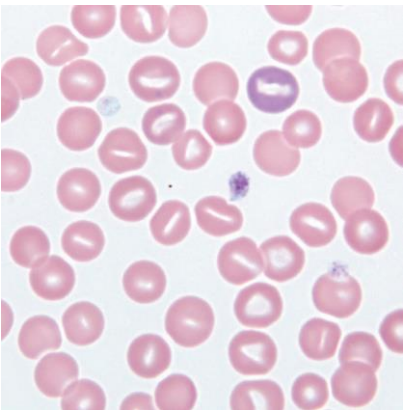
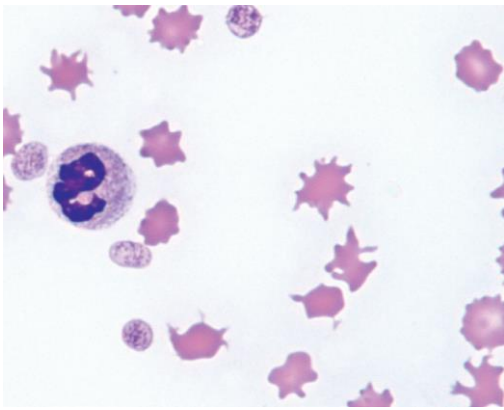
<p style="text-align: center;">Esfercitos.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 31: ESFEROCITO. EXTRAÍDO DE CATEDRA DE ANÁLISIS CLÍNICOS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO NEGRO (2019).</p>	<p>Hematíes de forma esférica que perdieron su palidez central y son de menor tamaño que los eritrocitos normales. Es frecuente observarlos en trastornos autoinmunes 1° o 2° (anemia hemolítica autoinmune), microangiopatías y neoplasias como linfoma o hemangiosarcoma.</p>
<p style="text-align: center;">Estomatocitos.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 32: ESTOMATOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).</p>	<p>Eritrocitos maduros de tamaño y color normales, pero con una forma ovalada o área en forma de estoma (boca) de palidez central. Pueden observarse en algún caso de anemia hemolítica autoinmune (Valenciano y col., 2014).</p>
<p style="text-align: center;">Acantocitos.</p>  <p style="text-align: center;">FIGURA N° 33: ACANTOCITOS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).</p>	<p>Son hematíes de aspecto redondeado que muestran varias espículas alargadas y distribuidas irregularmente en la superficie. Presentes en pacientes con neoplasias vasculares (hemangiomas y hemangiosarcomas), CID y linfoma (Valenciano y col., 2014).</p>

TABLA N° 4: ALTERACIONES ERITROCITARIAS. FUENTE PROPIA.



Alteraciones leucocitarias: particularmente, podemos observar la presencia de *Ehrlichia canis* y *Hepatozoon canis*. En la Ehrlichiosis Canina, la identificación de las mórulas es un método confirmativo. Sin embargo, no se observan en la gran mayoría de los casos y pueden estar presentes en un número reducido de células. Por lo tanto, se necesitan pruebas confirmatorias como serología o PCR.

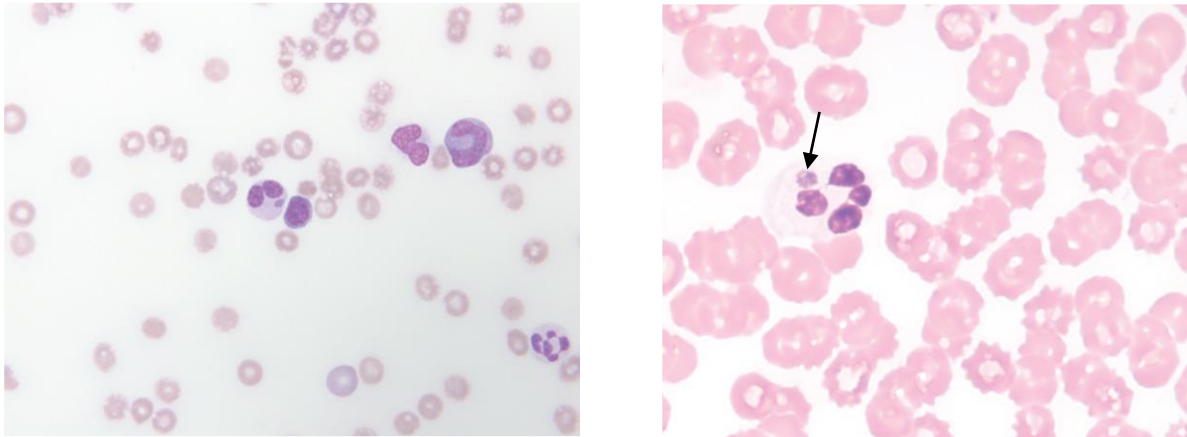


FIGURA N° 34: EHRLICHIA CANIS. VACUOLA CITOPASMÁTICA "MÓRULA". EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).

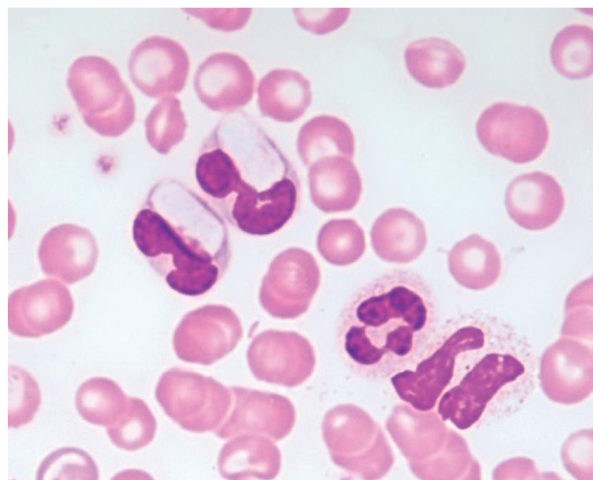


FIGURA N° 35: HEPATOZOON CANIS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).

Alteraciones plaquetarias: La observación de las plaquetas en un frotis de sangre es importante para evaluar la cantidad, su tamaño y forma. Como hice mención en el segundo capítulo de este trabajo, las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos que se forman a partir de los megacariocitos y son el elemento más pequeño en la sangre periférica. Carecen de núcleo y poseen formas discoideas, biconvexas y aplanadas en reposo y cambian de forma



cuando son estimuladas. Miden entre 2,2 – 3,7 μm de diámetro y 0,5 μm de espesor. El número total en circulación sanguínea de un canino es 200-500 $\times 10^3/\mu\text{l}$. Este número se puede estimar, mediante el conteo en el frotis sanguíneo: por lo menos 5-10 plaquetas por campo en un objetivo de x100 en aceite de inmersión. Como regla general, cada plaqueta en un campo de aceite de inmersión representa de 12.000 a 15.000 plaquetas/ μl . Por lo tanto, este método diagnóstico es una forma rápida para descartar o confirmar una trombocitopenia.

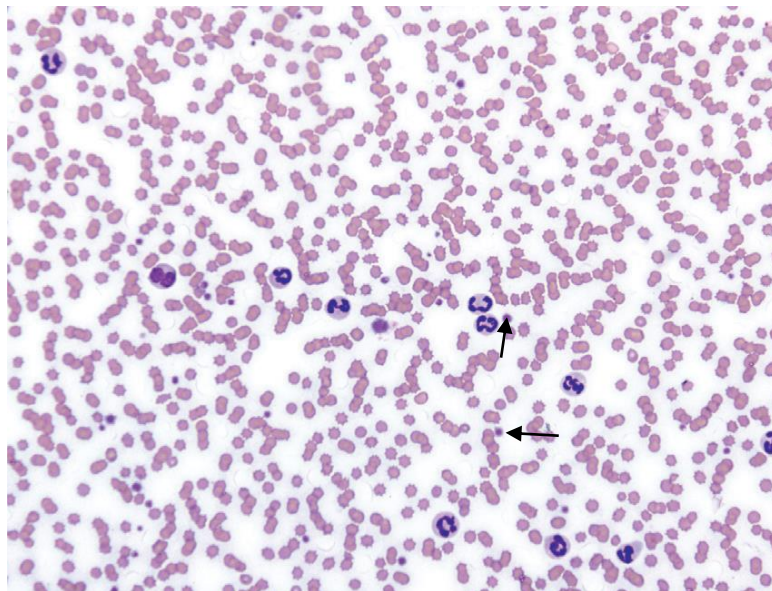


FIGURA N° 36: MORFOLOGÍA PLAQUETARIA. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).

La estimación del número de plaquetas en un frotis sanguíneo es esencial como medida de control de calidad y para asegurar la precisión de los recuentos plaquetarios por los métodos automatizados, ya que la presencia de agregados plaquetarios puede resultar en recuentos erróneamente bajos (pseudotrombocitopenia). Los agregados plaquetarios se forman por la activación plaquetaria en el momento de la recolección y manipulación de la muestra.

También, la pseudotrombocitopenia inducida por EDTA es un fenómeno de aglutinación in vitro de las plaquetas mediada por autoanticuerpos que reconocen antígenos en la superficie plaquetaria modificados por este anticoagulante. Esta agregación plaquetaria puede prevenirse mediante la recolección de muestras de sangre con anticoagulante citrato, en lugar de EDTA.

Además, se considera una forma de pseudotrombocitopenia, por ejemplo, algunos caninos de raza *Cavalier King Charles Spaniels* que presentan macrotrombocitopenia



hereditaria; estos pacientes, en el frotis sanguíneo presentarán recuentos plaquetarios bajos, pero son mucho más bajos cuando se realiza el recuento por métodos automatizados debido a que estas células son demasiado grandes para ser contabilizadas como plaquetas.

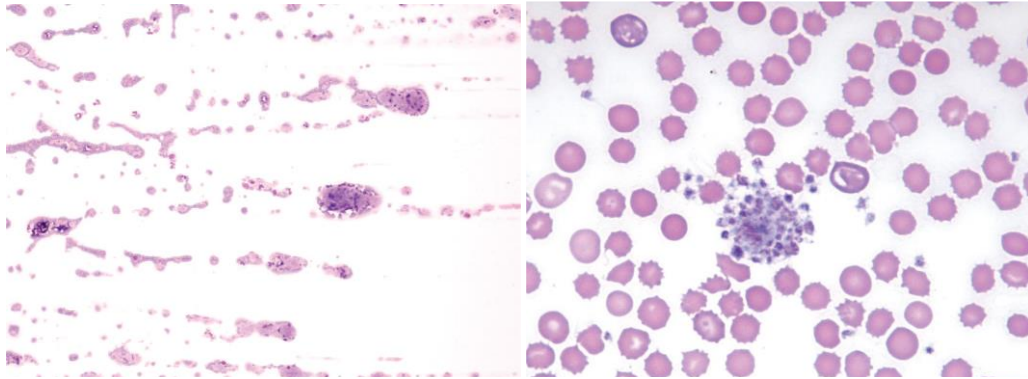


FIGURA N° 37:AGREGADOS PLAQUETARIOS. EXTRAÍDO (VALENCIANO Y COL., 2014).

En cuanto al número de plaquetas presentes en un frotis sanguíneo, se considera trombocitopenia (disminución en el número de plaquetas) cuando se observan menos de siete plaquetas por campo en un promedio para diez o más campos, en ausencia de grumos plaquetarios (Valenciano y col., 2014). Por otra parte, se considera trombocitosis (aumento en el número de plaquetas), cuando se observan más de 35 plaquetas por campo en un promedio para 10 o más campos.

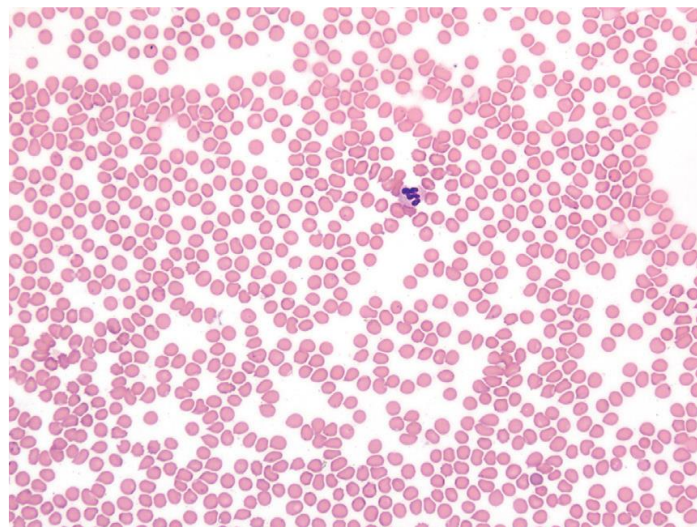


FIGURA N° 38: FROTIS SANGUÍNEO CON AUSENCIA DE PLAQUETAS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).



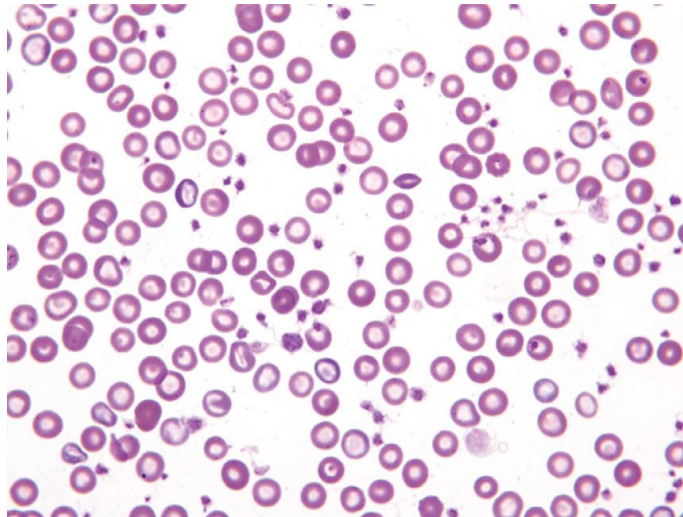


FIGURA N° 39: FROTIS SANGUÍNEO CON AUMENTO EN EL NÚMERO DE PLAQUETAS. EXTRAÍDO (VALENCIANO Y COL., 2014).

Finalmente, en caninos de la raza *Cavalier King Charles Spaniels* y en trastornos mieloproliferativos o mielodisplásicos, es probable observar la presencia de macroplaquetas. Las macroplaquetas son plaquetas de un diámetro mayor a 5 μm . La presencia de las mismas sugiere aceleración en la trombopoyesis y liberación temprana de las formas inmaduras (Valenciano y col., 2014).

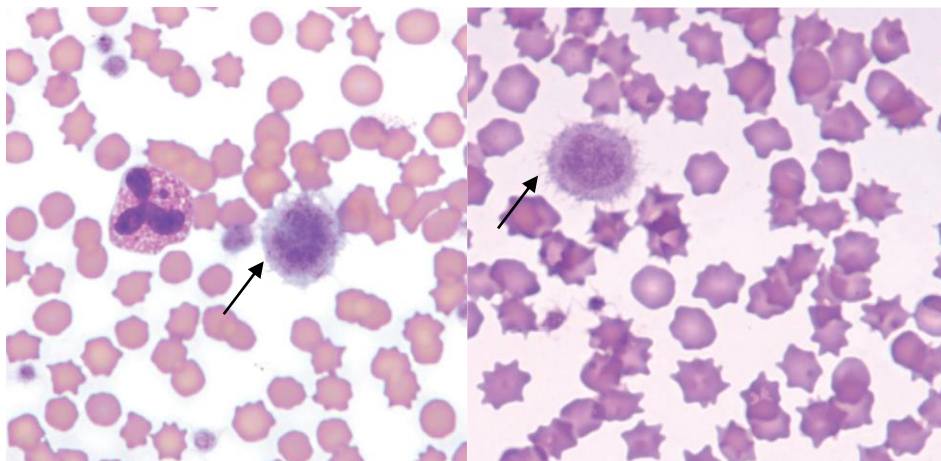


FIGURA N° 40: MACROPLAQUETAS. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO Y COL., 2014).

PERFIL HEMOSTÁTICO BÁSICO.

Como mencioné al comienzo de esta revisión, para la formación de un coágulo se necesitan dos etapas integradas, simultáneas y muy reguladas: en primer lugar, ante una lesión, participan las plaquetas y los componentes vasculares para la formación de un tapón



hemostático primario (hemostasia primaria). En segundo lugar, para la formación de un coágulo o tapón hemostático secundario más estable, se necesitan de factores de la coagulación y factores fibrinolíticos (hemostasia secundaria). En el laboratorio clínico, ambas etapas pueden ser estudiadas para determinar el origen y la causa de un trastorno hemorrágico.

Es importante recordar que, para la realización de estas pruebas, la técnica de extracción de sangre debe ser muy cuidadosa para evitar la activación del sistema hemostático. Las primeras gotas de sangre obtenidas, deben desecharse o usarse para otros tubos ya que de esta manera evitamos la contaminación de la muestra con el factor tisular y, por lo tanto, resultados erróneos. Es una buena alternativa, la colocación de un catéter intravenoso permanente para evitar lesiones adicionales, malestar y para reducir la pérdida de volumen de sangre.

El perfil hemostático comprende el recuento y morfología plaquetaria (ya descrito), tiempo de sangrado, tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), tiempo de protrombina (TP), fibrinógeno y cuantificación de los productos de la degradación de la fibrina (PDF) (Arauz, M. y col., 2020). Excepto el tiempo de sangrado, el recuento y la morfología plaquetaria, el resto de las pruebas evalúan la hemostasia secundaria y la fibrinólisis: es recomendable siempre una revisión completa de la hemostasia para descartar otras causas de sangrado espontáneo.

◆ *Tiempo de sangrado.*

Esta prueba *in vivo* es una prueba rápida que se puede realizar en el consultorio. El tiempo de sangrado en la mucosa bucal o en el pabellón auricular se realiza para evaluar la función plaquetaria. Consiste en realizar una pequeña incisión con una lanceta o aguja estéril en un animal bien sujeto en forma manual y en decúbito lateral. Luego de realizar la incisión iniciamos el cronómetro y al mismo tiempo secamos la sangre con una gasa sin desprender el coágulo. Cuando la herida deja de sangrar, detener el cronómetro; los tiempos normales (en un animal sano) son de dos a tres minutos. La prolongación de este tiempo se produce en animales con trombocitopenia o con alteraciones funcionales de las plaquetas; por este motivo no es necesaria realizarla si previamente hemos detectado una trombocitopenia luego del recuento plaquetario. Cuando un paciente con signos clínicos de trastorno hemorrágico primario (petequias y equimosis) presenta un recuento de plaquetas normales pero un tiempo



de sangrado prolongado, es un paciente con disfunción plaquetaria, relacionada con el factor von Willebrand (Couto, G., 2020).

Hoy en día, esta prueba es reemplazada por PFA-100 (en inglés, *platelet función analyzer – 100*) que valora automáticamente la adhesión y agregación plaquetaria.



FIGURA N° 41: TIEMPO DE SANGRADO EN MUCOSA ORAL CANINA. EXTRAÍDO DE LA WEB VETFOLIO.

- ◆ *Tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT) y tiempo de protrombina (TP).*

A modo de mención, ambas pruebas evalúan la hemostasia secundaria y se utiliza plasma obtenido de una muestra de sangre con citrato de sodio. Específicamente, APTT evalúa las vías intrínsecas y común, por lo contrario, PT evalúa el sistema extrínseco y común. Estas determinaciones pueden realizarse de manera automática (coagulómetros) o en forma manual con reactivos provistos por el mercado en el que evaluamos el tiempo de formación del coágulo; si el tiempo es prolongado, indica un déficit de uno o varios factores. Cuando ambas determinaciones están aumentadas, indicarían afecciones de ambas vías o del sistema común.

- ◆ *Pruebas evaluadoras de la fibrinólisis: Fibrinógeno, productos de degradación del fibrinógeno (PDFs) y dímero – D.*

La determinación del fibrinógeno (factor I) es la de mayor alcance para los Veterinarios, ya que puede realizarse sin inconvenientes y con pocos instrumentos. Esta



glicoproteína está presente en el plasma y en los gránulos plaquetarios, por lo tanto, puede realizarse su medición junto con las proteínas totales o sólidos totales mediante la utilización de un refractómetro. La técnica consiste en:

- Llenar dos tubos de microhematocrito con sangre obtenida con EDTA.
- Centrifugar cinco minutos.
- Medir las proteínas totales del tubo 1.
- Colocar el tubo 2 en baño maría a 56°C 3 minutos, para precipitar el fibrinógeno.
- Centrifugar el tubo 2 tres minutos.
- Medir las proteínas totales del tubo 2.
- La concentración de fibrinógeno se obtiene restando las proteínas totales del tubo 2 al tubo 1.

Un aumento de la concentración de fibrinógeno en sangre es indicativo de inflamación (proteína de fase aguda). La concentración se puede encontrar disminuida en casos de coagulación intravascular diseminada, por la lisis del mismo.



FIGURA N° 42: REFRACTÓMETRO. EXTRAÍDO DE (GREGG, L. Y COL.,2011).

La plasmina actúa sobre la fibrina y el fibrinógeno generando PDFs. La determinación de estos productos es útil para el diagnóstico y seguimiento de la coagulación intravascular diseminada. El fundamento de la prueba es la aglutinación en partículas de látex que tienen unidos un anticuerpo monoclonal contra el fragmento D; el grado de aglutinación es directamente proporcional a la concentración de PDF de la muestra. El dímero – D se origina por acción de la plasmina sobre la fibrina; su presencia confirma que ha ocurrido formación de trombina y plasmina. El fundamento de la prueba es el mismo que para PDFs (aglutinación en látex). PDFs y dímero – D, ambos aumentan por exceso en la coagulación y a su vez



exceso en la fibrinólisis (por ejemplo, pacientes con coagulación intravascular diseminada) (Biblioteca de pruebas – Servicio de Hematología, 2018).

Luego de evaluar la hemostasia a través de la realización de estas simples pruebas, el clínico debería estar en condiciones de reducir el número de diagnósticos diferenciales: el frotis revela si el paciente es trombocitopénico o no; si no lo es y presenta sangrado prolongado hay posibilidades de que exista un defecto en la función plaquetaria. También PT y APTT prolongados indican una anomalía en las vías intrínsecas/extrínsecas y comunes. Por último, un resultado positivo para la prueba de PDF apoya la presencia de fibrinólisis secundaria (Couto, G., 2020).

En un paciente trombocitopénico se pueden presentar distintos perfiles de pruebas hemostáticas, por ejemplo:

- **Trombocitopenia con pruebas APTT, PT Y PDF normales:** generalmente son el resultado de una falta de producción o mayor destrucción plaquetaria.
- **Trombocitopenia con resultados prolongados de las pruebas APTT y PT y resultado positivo a PDF:** este perfil sugiere un consumo tanto de plaquetas como de factores de la coagulación (coagulación intravascular diseminada).

Para una confirmación adicional del diagnóstico presuntivo, podemos proceder a enviar la muestra a un laboratorio de referencia o a un laboratorio especializado en coagulación. Este tipo de laboratorios especializados cuentan con servicios como la tromboelastografía, que evalúa la hemostasia global incluida la adhesión y agregación plaquetaria, la formación de fibrina, fibrinólisis y la retracción del coágulo.

BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.

A través de la realización de un perfil bioquímico, se pueden obtener pistas sobre una enfermedad subyacente causante de trombocitopenia. Además, es importante la realización de este estudio para obtener un panorama general del estado del paciente. Por ejemplo, un paciente con coagulación intravascular diseminada puede presentar anomalías bioquímicas séricas como la hiperbilirrubinemia (por hemólisis o trombosis hepática), azotemia e hiperfosfatemia (por microembolización renal grave) y aumento de la actividad de las enzimas hepáticas por hipoxia. Por otro lado, en pacientes con linfoma, las alteraciones bioquímicas surgen de la producción de sustancias bioactivas por las células tumorales o bien por fallo orgánico; las anomalías frecuentes en estos animales son la hipercalcemia y las gammapatías (Couto, G., 2020). Caninos con infección por *Ehrlichia canis* pueden presentar



hiperproteinemia, hiperglobulinemia, aumento de alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (Greene, C., 2008).

Diagnóstico Por Imágenes.

El diagnóstico a través de las imágenes como radiografía o ecografía, se realizan cuando mediante la historia y el examen clínico del paciente, no puede identificarse una causa incitante de trombocitopenia u otro trastorno que produzca sangrados superficiales. Por ejemplo, una radiografía de abdomen puede revelar un agrandamiento del bazo que no es evidente en la examinación física. También una radiografía de tórax, puede ser necesaria para descartar posibles causas de epistaxis como neoplasia o metástasis pulmonares y pólipos nasales.

En caninos con hemangiosarcoma, las imágenes radiográficas torácicas se caracterizan por la presencia de infiltrados intersticiales o alveolares. Este patrón puede ser debido a metástasis verdaderas o a coagulación intravascular diseminada y hemorragias intrapulmonares. En estos casos, la ecografía es un método fiable para evaluar la presencia de neoplasias intraabdominales.

Evaluación De Médula Ósea.

Una de las indicaciones para realizar un examen de médula ósea podría ser cuando se detectan anomalías en sangre periférica, como es el caso de una trombocitopenia sin una causa determinada o cuando las células sanguíneas presentan una morfología anormal o son inmaduras (Harvey, J., 2012). Esta herramienta es muy valiosa para la identificación y caracterización de muchos trastornos hematopoyéticos y hematológicos; al ser tan compleja su evaluación, muchas veces es necesario derivar a un médico patólogo (Valenciano, A. y col., 2020).

La médula ósea es el principal órgano hematopoyético: se encuentra en los huesos largos (húmero y fémur) y planos del cuerpo (vértebras, esternón, costillas y pelvis) y está compuesta por células hematopoyéticas y otras células que apoyan el proceso de hematopoyesis. A medida que el animal alcanza la edad adulta, desaparecen las células hematopoyéticas y el espacio medular es reemplazado por grasa (Valenciano, A. y col., 2020).



Para su evaluación se pueden realizar aspirados medulares para citologías o extracción de muestras (biopsia) para estudios histopatológicos. En Medicina Veterinaria los aspirados celulares son los que se realizan con mayor frecuencia ya que resulta más fácil su ejecución, son rápidos y menos costosos. También existen pocas contraindicaciones para su realización; la anestesia sería el mayor riesgo para el paciente. Con lo que respecta a un paciente con trombocitopenia, el examen de médula ósea no está justificado en todos los casos; sí está justificado cuando este trastorno persiste a pesar del tratamiento y no se evidencian otras causas a través de la realización de otros estudios complementarios. Los sitios en los que se realiza la aspiración pueden ser la cresta ilíaca, el fémur proximal, húmero proximal, esternón y costillas en su extremo dorsal, como lo indica la siguiente figura.

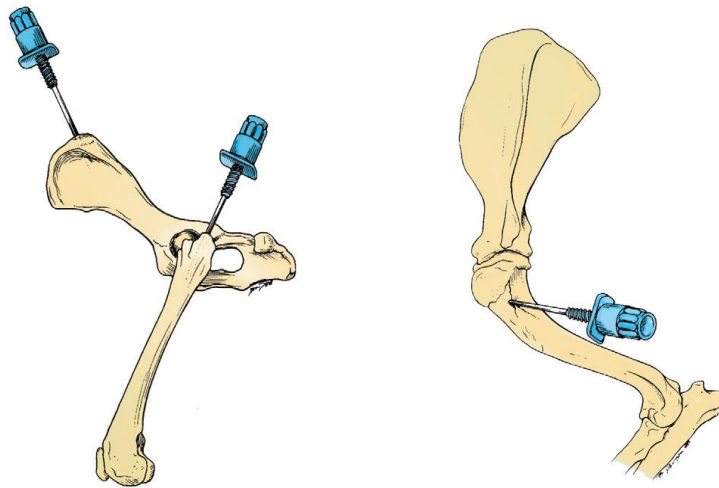


FIGURA N° 43: SITIOS DE EXTRACCIÓN DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).



FIGURA N° 44: AGUJA PARA ASPIRACIÓN. SUJECCIÓN, TRICOTOMÍA Y ANTISEPSIA. EXTRAÍDO (HARVEY, J., 2012).



Para esta técnica se necesita una aguja con un estilete extraíble que permanece en su lugar hasta que se ingresa a la cavidad de la médula y así evitar la obstrucción del lumen de la aguja con hueso cortical. Una aguja de calibre 16 o 18 y de 1 y 1,5 pulgadas de largo es aceptable. En primer lugar, se puede utilizar anestesia local y tranquilizantes para pacientes que se resisten a la sujeción. Luego se realiza la tricotomía y antisepsia del sitio de extracción: el procedimiento se realiza con instrumentos estériles.

Antes de ingresar al espacio medular, se realiza una incisión en la piel con una hoja de bisturí; luego se aplica una presión moderada a la aguja con el estilete bloqueado, mientras la aguja gira en sentido horario y antihorario alternadamente. Cuando la aguja se encuentre firmemente incrustada en el hueso, se retira el estilete y se conecta una jeringa de 10 a 20 ml a la aguja. Es preferible que esta jeringa contenga EDTA, de no ser así, extraer la muestra rápidamente para la realización de los frotis antes de la degeneración celular. Los frotis se tiñen con Wright-Giemsa: la tinción conlleva el doble de tiempo comparado con la tinción de frotis sanguíneos (Harvey, J., 2012).

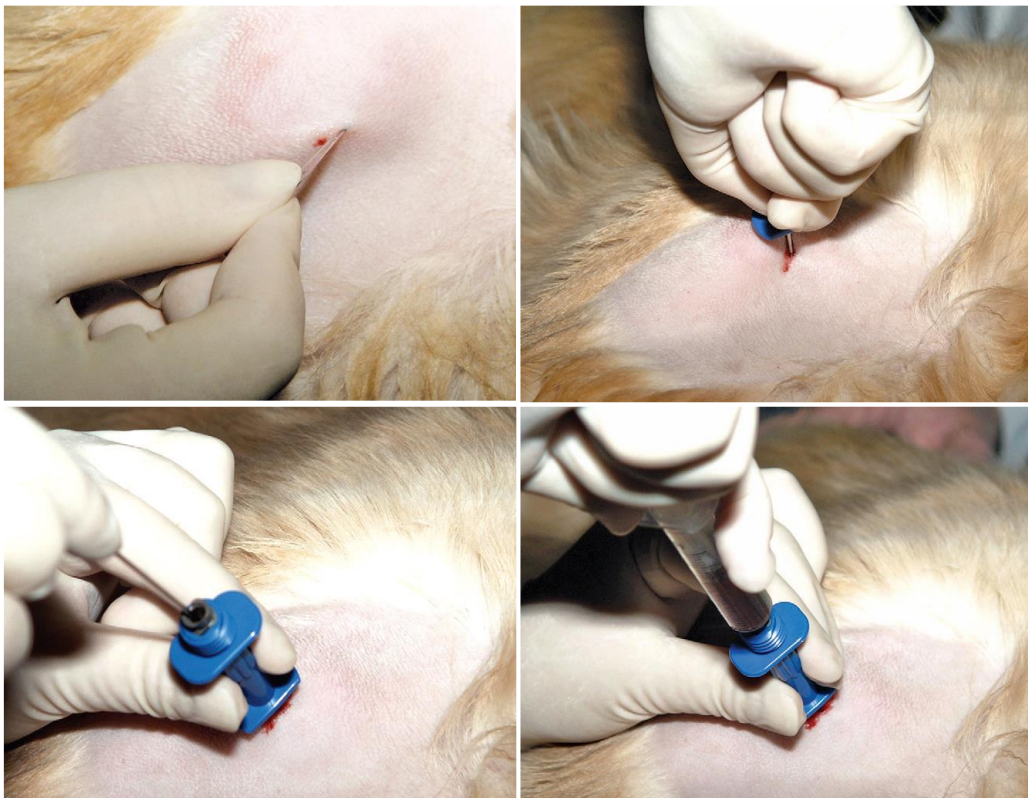


FIGURA N° 45: PROCEDIMIENTO PARA ASPIRACIÓN DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (HARVEY, J., 2012).



Los frotis obtenidos deben observarse con objetivos de baja potencia para obtener una apreciación de la celularidad general: la médula ósea normal es heterogénea y posee una celularidad normal entre 25% y 75% según la edad del paciente. Por ejemplo: es altamente celular en animales en crecimiento y disminuye con la edad del paciente. También puede ser hipercelular en respuesta a una alteración hematológica como la trombocitopenia o en forma secundaria a proliferaciones neoplásicas como el linfoma.

Particularmente, los megacariocitos deben evaluarse con objetivo de 10X. Estas células no se distribuyen uniformemente por lo tanto es difícil estimar el número de los mismos. Su morfología fue descrita en el capítulo de “Fisiología de la hemostasia - conceptos básicos”. Para ello debemos observar varios campos de la muestra:

- ◆ Hiperplasia megacariocítica: es la respuesta regenerativa esperada a algunas causas de trombocitopenia, como la inmunomediada, coagulación intravascular diseminada, hiperesplenismo, lesión vascular y causas infecciosas como la Ehrlichiosis. En este caso, se observarán más de 15 megacariocitos por campo.
- ◆ Hipoplasia megacariocítica: se produce por destrucción inmunomediada de megacariocitos, hipoplasia por efectos de ciertas drogas o enfermedades infecciosas como la Ehrlichiosis también.

Por lo tanto, la presencia de hiperplasia megacariocítica en la médula ósea nos sugiere un aumento del consumo de plaquetas en la periferia o destrucción de las mismas por componentes inmunomediados. Contrariamente, la presencia de hipoplasia megacariocítica sugiere un problema medular como la supresión de la producción de megacariocitos.

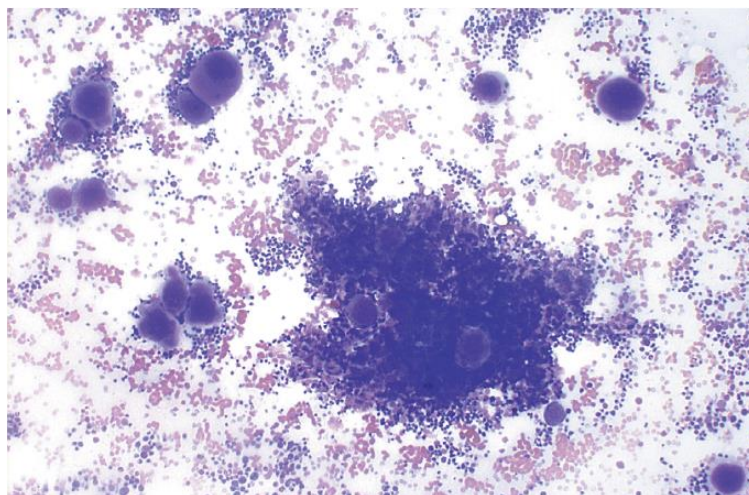


FIGURA N° 46: HIPERPLASIA MEGACARIOCÍTICA EN ASPIRADO DE MÉDULA ÓSEA. EXTRAÍDO DE (VALENCIANO, A. Y COL., 2020).



Serología.

Anticuerpos antiplaquetarios.

La demostración de anticuerpos unidos a la superficie plaquetaria es una prueba útil para el diagnóstico de trombocitopenia inmunomediada primaria, específicamente. Para medir en forma directa o indirecta la presencia de estos anticuerpos, se han desarrollado varios métodos de detección como ELISA, citometría de flujo e inmunofluorescencia. Cuando estas pruebas resultan positivas, la trombocitopenia se puede suponer que tiene un componente inmunológico.

Couto G. (2020), en la sexta edición del libro *Small Animal Internal Medicine*, mencionan un estudio que se realiza en la Universidad Estatal de Kansas que fue inventado por el especialista en medicina interna, Dr. David Lewis. Este estudio, es un ensayo de citometría de flujo que detecta anticuerpos IgG unidos a las superficies plaquetarias de caninos a través de la utilización de un anticuerpo monoclonal de IgG que está marcado con un tinte verde fluorescente: si el paciente tiene anticuerpos IgG en la superficie de sus plaquetas, el anticuerpo monoclonal marcado con fluorescencia reaccionará a este anticuerpo. Para detectar las plaquetas marcadas con fluorescencia, se utiliza un citómetro de flujo con láser y los resultados se expresan en como el porcentaje de plaquetas recubiertas con IgG (Web de Kansas State University, recuperado el 12 de mayo de 2021).

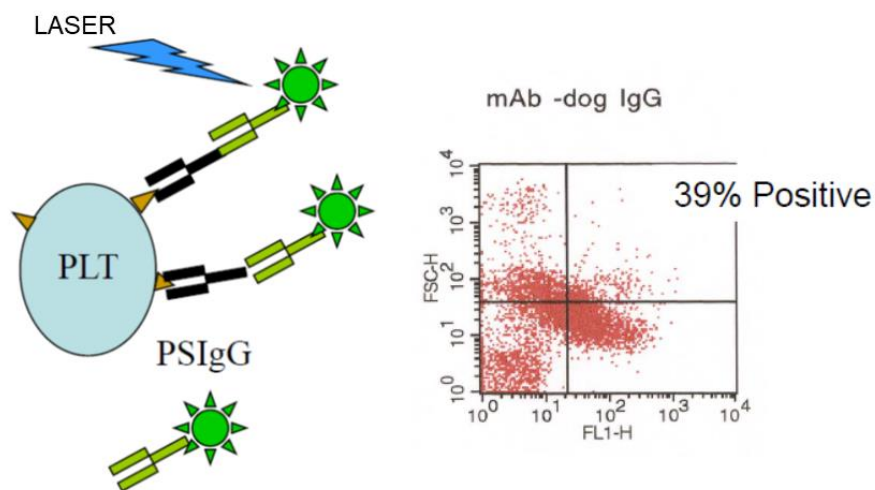


FIGURA N° 47: DETECCIÓN DE INMUNOGLOBULINA G POR CITOMETRÍA DE FLUJO. EXTRAÍDO Y MODIFICADO DE LA WEB KANSAS STATE UNIVERSITY.



La sensibilidad de esta prueba es del 88% mientras que la especificidad es del 90 – 100%. Para su realización, la muestra de sangre debe ser recolectada con EDTA y enviada al laboratorio dentro de las 24 horas con refrigeración para obtener resultados más precisos, debido a que la muestra a medida que envejece, aumenta la posibilidad de obtener resultados falsos positivos. Un resultado positivo, respalda el diagnóstico de trombocitopenia inmunomediada, pero lamentablemente no diferencia entre TIM primaria o secundaria, por lo tanto, el médico clínico deberá examinar la historia clínica del paciente, los signos clínicos y la realización de otras pruebas de laboratorio para obtener una base de datos (Web de Kansas State University, recuperado el 12 de mayo de 2021).

Además, se debe tener en cuenta que muchas enfermedades infecciosas o neoplásicas y la exposición a fármacos pueden causar mecanismos inmunomediados y por lo tanto las muestras de sangre de estos pacientes pueden resultar positivas. También pueden ocurrir falsos negativos, cuando el ensayo se realiza luego de iniciar una terapia inmunosupresora (Couto, G., 2020).

Detección de anticuerpos Anti-Ehrlichia.

En pacientes con sospecha de infección por *Ehrlichia canis*, como causante de trombocitopenia, se pueden realizar una serie de estudios como ELISA, Wester blot, anticuerpo inmunofluorescente indirecto (IFA) y pruebas serológicas rápidas disponibles en kits comerciales.

Como el diagnóstico de Ehrlichiosis Canina es además de la observación de las mórulas en frotis sanguíneos, la detección de anticuerpos, hay que tener en cuenta una serie de puntos. Por ejemplo: es posible que un canino esté infectado en forma aguda y no presente título demostrable de anticuerpos (periodo ventana), por lo tanto, es necesario repetir la prueba 2-3 semanas posteriores. Además, es posible la persistencia del título de anticuerpos luego del tratamiento o la recuperación (pueden persistir hasta los 4 años) (Greene, C., 2008). Entonces, si se detectan anticuerpos contra *Ehrlichia Canis* en un paciente con hallazgos clínicos compatibles con la enfermedad (importancia del examen clínico y otros métodos complementarios), se debe realizar un diagnóstico presuntivo y comenzar con el tratamiento ya que la detección de anticuerpos por sí sola no es la confirmación de la enfermedad. Los resultados negativos en estas pruebas no excluyen totalmente la enfermedad ya que los signos clínicos pueden detectarse antes de la seroconversión (Couto, G., 2020).



A diferencia de las otras formas de diagnóstico, los kits comerciales son pruebas rápidas (resultados en 5 a 10 minutos) y accesibles para realizar en un consultorio veterinario. Tampoco requiere de equipos de elevado costo y son de fácil almacenamiento y mantenimiento. Se trata de test inmunocromatográficos que determinan la presencia o no de anticuerpos anti – *Ehrlichia* y que cada vez están siendo más empleados para el diagnóstico. La técnica se basa en permitir que una solución antigénica (sangre del paciente) fluya a través de una banda; la sangre pasará en primer lugar por la zona donde se encuentra el anticuerpo desecado (línea de control) formando inmunocomplejos. En segundo lugar, fluye por una zona en donde se encuentra el anticuerpo frente al antígeno, formando así inmunocomplejos (Tizard, I., 2018). Luego de realizar el test, si el mismo presenta dos líneas marcadas (control y prueba), quiere decir que el paciente posee anticuerpos para este agente (Figura N° 52). En caso contrario, si presenta solo la línea de control quiere decir que el resultado es negativo. También, puede suceder que no aparezca ninguna línea o solo aparezca la línea de prueba; en estos casos debemos repetir la prueba.



FIGURA N° 48: TEST INMUNOCROMATOGRÁFICO, RESULTADO POSITIVO EHRLICHIA CANIS. EXTRAÍDO DE UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID.

Otra prueba indirecta muy utilizada, es el ensayo de anticuerpos fluorescentes (IFA). La inmunofluorescencia indirecta se basa en la utilización de suero o tejidos que contengan el agente y una anti-inmunoglobulina conjugada con un marcador fluorescente para la interpretación del estudio en un microscopio. A esta prueba se la considera una prueba estándar, pero es de menor acceso y mayor complejidad.

Además de las pruebas indirectas mencionadas anteriormente, puede utilizarse ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Esta prueba detecta anticuerpos contra *E. canis* y actualmente existen en forma de test rápidos para realizar en el consultorio, que utilizan reactivos altamente purificados y una misma plataforma puede detectar más de un antígeno. La sensibilidad y la especificidad de estas pruebas las registra el fabricante.



Por último, el PCR es una prueba sensible para detectar la infección aguda por *E. canis* ya que detecta la presencia o ausencia de cantidades diminutas de ADN del agente infeccioso en cuestión. Es decir, esta prueba puede ser necesaria para confirmar la enfermedad en la primera semana de infección, cuando las pruebas serológicas resultan negativas. Las pruebas PCR disponibles comercialmente pueden llevarse a cabo en líquido sinovial, humor acuoso, líquido cefalorraquídeo y tejidos. Pueden presentarse resultados positivos antes de la seroconversión y estos resultados confirman la infección a comparación de las pruebas serológicas que sólo documentan la exposición.

TERAPÉUTICA.

Manejo Del Paciente Trombocitopénico.

Un paciente con trombocitopenia o alteraciones en la hemostasia, al ser considerado de riesgo, debe ser manipulado con cuidado para no inducir el sangrado y minimizar el riesgo de lesiones. Por ejemplo, al momento de realizar una venopunción, utilizaremos agujas de pequeño calibre y luego de la misma aplicaremos presión en el sitio durante 5 minutos como mínimo (para favorecer la hemostasia primaria) y tratar de evitar la venopunción yugular. También, para la administración de medicamentos, utilizaremos las vías IV y oral para no producir hemorragias subcutáneas.

Otras formas de evitar el sangrado iatrogénico, es minimizar los procedimientos invasivos. Un ejemplo es la toma de muestras de orina por cistocentesis. Otros procedimientos invasivos pero necesarios para estos pacientes como la colocación de un catéter intravenoso o la aspiración de médula ósea pueden realizarse en forma segura para evitar lesiones o hemorragias adicionales. Además, un paciente hemorrágico o con riesgo a presentar lesiones hemorrágicas, debe permanecer en reposo si es posible dentro de una jaula y con correa si es necesario (Couto, G., 2020).

En primer término, se aplican diversos principios básicos para el tratamiento de caninos con trastornos hemorrágicos espontáneos. Como el sangrado activo puede poner en riesgo la vida del paciente, el mismo debe estar orientado a controlar la hemorragia, estabilizar el paciente y minimizar la recidiva. Básicamente, es importante garantizar una buena perfusión y oxigenación tisular mediante suplementación de oxígeno; también se deben administrar soluciones cristaloides y coloides que además de servir como sostén para el sistema cardiovascular, corregiría los disturbios electrolíticos del metabolismo que pueden



interferir en la función hemostática. Mantener la temperatura corporal también es una buena estrategia, ya que la hipotermia enlentece los procesos biológicos, entre ellos la adhesión y agregación plaquetaria (Gómez, N. y col., 2017).

Existen fármacos procoagulantes inespecíficos, como el ácido épsilon – aminocaproico, que se han estudiado y han sido utilizados para tratar el sangrado espontáneo (Couto, G., 2020). El ácido aminocaproico inhibe la fibrinólisis a través de la inhibición de las sustancias activadoras del plasminógeno y actualmente se lo está evaluando como tratamiento adyuvante de la trombocitopenia en caninos, aunque todavía resta investigar la eficacia y la seguridad del mismo (Plumb, D., 2006). Un estudio veterinario demostró que este antifibrinolítico disminuye la prevalencia de hemorragia posoperatoria en Galgos de carreras retirados, aumentando la fuerza del coágulo y reduciendo la fibrinólisis (Murphy y col., 2016).

También se evaluó la eficacia de Yunnan baiyao, un fármaco tradicional chino a base de hierbas, utilizado para reducir el sangrado; este fármaco fue desarrollado en China a principios del siglo XX y sus propiedades hemostáticas fueron utilizadas por primera vez en los soldados de la segunda guerra mundial. El mecanismo de acción, se trataría en una mejor expresión de las glicoproteínas de superficie de las plaquetas en condiciones de estimulación por lo tanto acortaría el tiempo de sangrado (Murphy y col., 2016).

Las transfusiones de productos sanguíneos, pueden ser necesarias en pacientes que presentan anemia o descompensación por la gran pérdida de sangre; el grado de hemorragia del paciente lo evaluaremos en el examen físico y el seguimiento del mismo y decidiremos si aplicar o no esta terapia. Este tema será desarrollado posteriormente, en este capítulo.

Principios Básicos De La Terapia.

El tratamiento de la trombocitopenia en caninos, está pautado por la etiología de la misma. Desfavorablemente, muchas veces se desconoce la causa o bien todavía no se encuentran disponibles los resultados de las pruebas específicas. En otros casos, no es posible acceder a estas pruebas que nos orientan hacia un diagnóstico más específico, por lo tanto, aquí juega un rol esencial tanto la reseña, anamnesis y examinación física del paciente para llevar adelante un tratamiento empírico. La mayoría de las veces, un hallazgo hematológico como la trombocitopenia, se engloba bajo el término de “idiopática” o “inmunomediada”.



Básicamente como primera medida, en la anamnesis determinaremos si el paciente está recibiendo alguna medicación; si así lo fuera, se debería suspender la misma y reevaluar el conteo de plaquetas luego de unos días; recordemos que esta alteración hematológica puede ser inducida por fármacos y los más comunes son los utilizados en la quimioterapia o los antimicrobianos. También, es fundamental descartar causas como neoplasias, CID o filariosis que son de carácter grave y requieren atención de urgencia.

Si sospechamos de una enfermedad infecciosa como agente causal de trombocitopenia, el tratamiento se basará en la administración de un antimicrobiano adecuado y muchas veces la doxiciclina es implementada empíricamente hasta obtener el resultado de las pruebas diagnósticas o como uso definitivo hasta observar mejoras en el paciente (Day, M., 2012).

Por otro lado, en pacientes diagnosticados con trombocitopenia inmunomediada, el objetivo del tratamiento se basará en lograr la supresión del sistema inmunitario para detener la destrucción plaquetaria.

A continuación, en los siguientes apartados, describiré el tratamiento de cada uno de los causantes de la trombocitopenia haciendo especial hincapié en el esquema terapéutico y los fármacos mayormente utilizados en la inmunosupresión.

◆ *Trombocitopenia inmunomediada.*

El pilar del tratamiento en pacientes con enfermedad inmunomediada son los fármacos inmunosupresores, pero de todas maneras es importante identificar cualquier enfermedad subyacente para que también sea tratada y así lograr una buena respuesta. El objetivo del tratamiento en este tipo de enfermedades es, como mencioné anteriormente, controlar el proceso inmunomediado y minimizar los efectos adversos de los fármacos utilizados. Estos efectos muchas veces deben ser tolerados por el paciente, por un corto tiempo, para lograr la remisión de la enfermedad. A largo plazo, si no es posible disminuir la dosis de los mismos, se aconseja el manejo o terapia alternativa o adicional con otro tipo de fármaco. Es importante tener en cuenta, que el tratamiento con dos o más fármacos al mismo tiempo puede causar inmunosupresión grave y alto riesgo de infección secundaria como infecciones urinarias, pielonefritis, colangiohepatitis, abscesos hepáticos y piodermia (Couto, G., 2020). También, como parte de la terapia inmunosupresora, los pacientes deben recibir atención de apoyo y constante monitorización por posibles complicaciones debido a los efectos adversos de los fármacos utilizados.



Glucocorticoides: El tratamiento inicial o los *fármacos de primera línea*, la mayoría de las veces son los glucocorticoides. Se utilizan como primera línea ya que poseen amplios efectos inmunosupresores, bajo riesgo de toxicidad inmediata, son de bajo costo y su inicio de acción es rápido. Los efectos a corto plazo se deben a una rápida disminución de la actividad fagocítica de los macrófagos esplénicos y hepáticos, mientras que a largo plazo producen supresión de la inmunidad mediada por células. Estos fármacos son muy útiles, pero pueden generar efectos adversos como poliuria, polidipsia, jadeos, debilidad, alteraciones dermatológicas, predisposición a infecciones, ulceraciones gastrointestinales, atrofia muscular, resistencia a la insulina e hiperglucemia. Como estrategia utilizada para evitar esta variedad de efectos adversos, se utilizan las dosis más bajas que puedan controlar la enfermedad y en cuanto sea posible, cambiar la terapia a días alternos. Si los efectos adversos son intolerables, antes de agregar otros fármacos con efecto inmunosupresor, se debe evaluar la respuesta a los glucocorticoides ya que se necesitan al menos 7 días de terapia para lograr un efecto clínico (Couto, G., 2020).



FIGURA N° 49: ATROFIA DEL MÚSCULO TEMPORAL POR DOSIS INMUNOSUPRESORAS DE PREDNISOLONA. EXTRAÍDO DE (COUTO, G., 2020).

Se han realizado estudios que sugieren que los mecanismos de acción de la prednisolona pueden incluir una mayor producción efectiva de plaquetas, alteración de la unión entre megacariocitos y anticuerpos e interferencia del sistema retículoendotelial en la eliminación de plaquetas; también contracción esplénica que libera más plaquetas a la circulación y estabilización de membranas vasculares disminuyendo el consumo plaquetario. Es muy utilizado en alteraciones hematológicas como las trombocitopenias y las anemias hemolíticas autoinmunes y su efecto inmunosupresor se debe a que disminuye los niveles circulantes de linfocitos T (Couto, G., 2020). Las respuestas generalmente se observan dentro de las 24 a 96 horas. Generalmente, el tratamiento comienza con una dosis de ataque (o



dosis más alta) y luego según el recuento plaquetario y los signos clínicos del paciente, la dosis se puede disminuir un 50% cada una o dos semanas. Luego de 6 meses sin recaídas, puede ser interrumpido el tratamiento. Si bien la prednisolona se prefiere por encima de la dexametasona, porque posee menor riesgo de producir ulceración aguda del tracto gastrointestinal, su administración puede ser en conjunto con inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol (0,5-1 mg/kg vía oral cada 24 horas) u otros antiácidos-protectores gástricos.

Dosis para inmunosupresión: prednisolona 2-7 mg/kg/día vía oral en caninos (Papich, M.,2016).

Azatioprina: Se la utiliza como *fármaco de segunda línea*, habitualmente en conjunto con las dosis inmunosupresoras de prednisolona. El mecanismo de acción de la misma como agente inmunosupresor es antagonizar el metabolismo de la purina inhibiendo la síntesis de ADN, ARN y la mitosis en células de rápido crecimiento, con efecto preferente sobre los linfocitos T (inhibición de la inmunidad mediada por células y síntesis de anticuerpos).

Dosis para inmunosupresión: 2 mg/kg/día vía oral en caninos.

El efecto adverso principal es la supresión de la médula ósea y como consecuencia provoca leucopenia, anemias y trombocitopenia. También puede provocar pancreatitis y hepatotoxicidad (Plumb, D., 2006). En caninos que presentan estos efectos adversos se deberían utilizar dosis más bajas (50 mg/m²/24 horas o 1 mg/kg/24 horas vía oral), aunque la supresión de la médula ósea normalmente ocurre entre 1 a 4 meses tras iniciar la terapia y es reversible. Los efectos del tratamiento pueden no desarrollarse hasta las 4-8 semanas y una respuesta positiva (aumento de plaquetas) nos permite disminuir la dosis de prednisolona y mantener las de azatioprina (Couto, G., 2010).

Vincristina: Es un agente antineoplásico e inmunosupresor de *segunda línea* que se une a la tubulina, una proteína estructural de las plaquetas; por lo tanto, a dosis bajas causará un aumento del número de plaquetas circulantes (estimula la endomitosis), pero en dosis altas puede ocasionar mielosupresión y trombocitopenia. El aumento del número de plaquetas en la circulación está relacionado con la liberación de las mismas a partir de la médula ósea y a la disminución de la destrucción por inhibición de la fagocitosis o la interferencia de la unión de los anticuerpos. Esta droga posee ciertas ventajas como ser de bajo costo y tener una muy buena disponibilidad (Couto, G., 2010). La administración conjunta de vincristina y prednisolona en perros con trombocitopenia inmunomediada, da como



resultado un aumento de plaquetas más rápido a diferencia de la administración de prednisona sola (Day, M., 2012).

Dosis para inmunosupresión: 0,5 mg/m² vía intravenosa monodosis.

Ciclosporina: Se utiliza como fármaco de *segunda o tercera línea*; es eficaz como agente único o en conjunto con prednisona. El mecanismo de acción es la inhibición de la fase inicial de activación de los linfocitos T CD4. Entre los efectos adversos que produce se encuentran las molestias intestinales, la predisposición a infecciones, hiperplasia gingival, papilomatosis y aumento en la pérdida del pelo. Una de las desventajas de este fármaco, es que el costo del mismo puede ser un inconveniente.

Dosis para inmunosupresión: entre 5 mg/kg cada 24 horas o 10 mg/kg cada 12 horas, vía oral.

Leflunomide: Es un fármaco de *tercera línea* utilizado en Medicina Humana para el tratamiento de la artritis reumatoidea. Su efecto inmunosupresor se debe a que su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la síntesis de pirimidina a través de la inhibición de la enzima dihidroorotato deshidrogenasa, causando indirectamente, una disminución en la síntesis de ADN y ARN. Por lo tanto, inhibe la proliferación de células T y B.

Este fármaco se utilizó por primera vez en caninos como parte de un protocolo inmunosupresor para el trasplante renal. Actualmente se lo utiliza como complementario en caninos que son refractarios a fármacos inmunosupresores tradicionales y en pacientes en los que los glucocorticoides están contraindicados. Puede generar efectos adversos como disminución del apetito, letargo, anemia leve y hematemesis o hematoquecia (Couto, G., 2020). Se encuentra disponible en Argentina como marca comercial de Medicina Humana.

Dosis para inmunosupresión: 2 a 4 mg/kg/24 horas vía oral en caninos.

Micofenolato Mofetil: También es un fármaco inmunosupresor utilizado en Medicina Humana para el tratamiento de lupus y artritis reumatoidea principalmente. Su mecanismo de acción, similar al de la azatioprina, es inhibir una enzima necesaria para la síntesis de purinas: inosina monofosfato deshidrogenasa. Este fármaco inhibe las células T y B y disminuye la producción de anticuerpos. Una de las ventajas que posee, es que se encuentra disponible como producto de administración oral y parenteral; importante en pacientes anoréxicos. Posee efectos adversos como toxicidad gastrointestinal (Couto, G., 2020).

Dosis para inmunosupresión: 10 mg/kg vía oral cada 12 horas en caninos.



Immunoglobulina intravenosa humana: La inmunoglobulina G es obtenida del plasma de donantes humanos sanos y es el tratamiento de elección para la púrpura trombocitopénica inmunomediada y otras enfermedades en las personas. El mecanismo de acción no se conoce, pero en caninos se cree que es bloquear los receptores Fc de los fagocitos, inhibiendo la fagocitosis y también el descenso en la producción de autoanticuerpos. La dosis en caninos es entre 0,25 -1,5 g/kg vía intravenosa durante 6-12 horas, pero la principal limitación para su utilización es el costo de la misma.

Esplenectomía: es una terapia accesoria cuando la dosis de los agentes inmunosupresores es inaceptable para los pacientes, debido a los efectos adversos. El objetivo de la remoción quirúrgica del bazo, es disminuir el número de células fagocíticas mononucleares que son los encargados de fagocitar plaquetas que se encuentran unidas a anticuerpos (Couto, G., 2010). La esplenectomía en pacientes con trombocitopenia inmunomediada posee una respuesta extremadamente variable: en 14 caninos a los que se les realizó la extracción del bazo, 7 mejoraron el recuento de plaquetas luego del procedimiento, 5 no tuvieron respuesta y 3 sin seguimiento (Nakamura y col., 2012).

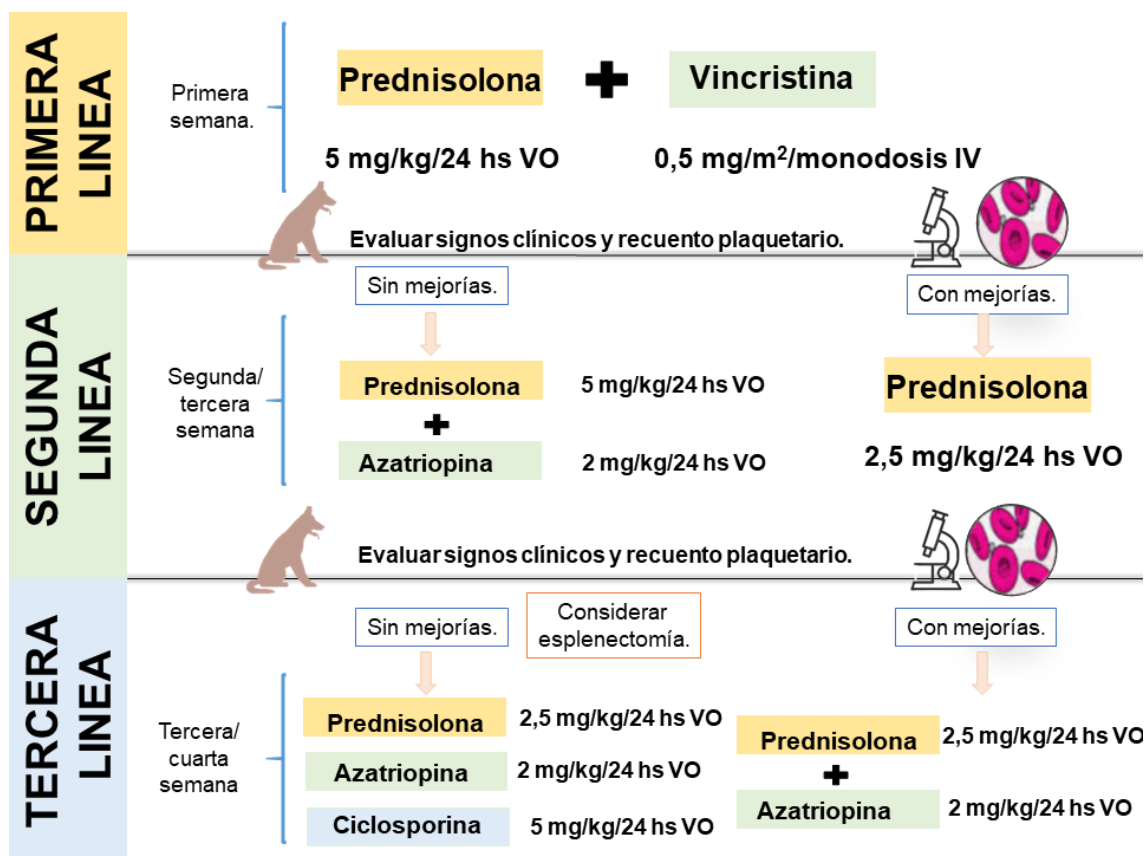


FIGURA N° 50: EJEMPLO DE ESQUEMA TERAPÉUTICO EN CANINO CON TIM. FUENTE PROPIA.



Fármacos de primera línea (cuadros amarillos) fármacos de segunda línea (cuadros verdes) y fármacos de tercera línea (cuadro azul). VO: vía oral.

◆ *Trombocitopenia causada por infección con Ehrlichia Canis.*

El tratamiento de la Ehrlichiosis Canina consiste básicamente en terapia antimicrobiana y cuidados de apoyo (fluidoterapia y transfusión sanguínea). Si bien actualmente existen muchas controversias en relación a la efectividad de los fármacos antirickettsiales, se cree que la doxiciclina es la mejor opción, aunque existen otras terapias alternativas como minociclina, cloranfenicol y diprionato de imidocarb que describiré luego. Como ya sabemos, *Ehrlichia Canis* es un organismo que persiste en forma intracelular por lo tanto es necesario que el fármaco que utilicemos penetre en la célula para eliminar la infección.

Se decide proceder al tratamiento de la Ehrlichiosis Canina cuando se presenta un paciente con anomalías clínicas y clínico-patológicas consistentes con esta enfermedad y además presente serorreactividad a *E. Canis* y/o evidencia molecular o citológica de infección. Es controvertido instaurar un tratamiento a un paciente clínicamente sano, seropositivo y sin anomalías hematológicas; según criterio médico tomaremos la decisión de comenzar o no la terapia, pero siempre es aconsejable el uso prudente de los antibióticos para evitar inducir innecesariamente la resistencia bacteriana.

El tratamiento en perros sanos es controvertido ya que no se conoce si el tratamiento frena la progresión hacia la fase crónica. Además, un paciente seropositivo no necesariamente está infectado (ya que se ha comprobado que los anticuerpos persisten sin haber infección reciente) y no todos los caninos seropositivos progresan a la fase crónica. Por último, todavía no se conoce si el tratamiento elimina la infección y si la elimina, puede reinfectarse. Por todo esto, es recomendable antes de instaurar un tratamiento, dar a conocer al dueño los pros y los contras del mismo y tomar la decisión terapéutica (Couto, G., 2010).

Básicamente, como principales objetivos del tratamiento, incluimos lograr la remisión de los signos clínicos, solucionar las anomalías clínico-patológicas y erradicar la rickettsia. Para esto se utilizan fármacos antimicrobianos de los cuales su efectividad está comprobada por evidencia clínica de otros profesionales o ensayos experimentales. Como fármaco de primera línea se utiliza la doxiciclina; segunda línea minociclina y como tercera línea, la rifampicina.



Los primeros días del tratamiento, en conjunto con la dosis del antimicrobiano, es recomendable utilizar dosis inmunosupresoras de glucocorticoides ya que los pacientes pueden presentar trombocitopenia grave riesgosa para la vida y son de utilidad en condiciones como poliartritis, vasculitis y meningitis mediadas por el sistema inmunitario. Muchas veces, cuando no se disponen de pruebas serológicas, el uso exclusivo de doxiciclina y glucocorticoides permiten un diagnóstico basado en el tratamiento, debido a la mejoría clínica en 24 a 48 horas (Greene, C., 2006).

Finalmente, como parte del tratamiento de control se deben evaluar los recuentos plaquetarios por lo menos 1 a 3 meses luego del tratamiento debido al posible riesgo de reagudizaciones o reinfecciones principalmente en zonas endémicas. También es importante el control de las garrapatas en el paciente, ya que actualmente no se dispone de una vacuna para prevenir la enfermedad (Greene, C., 2006).

Tetraciclinas: Históricamente fueron los antibióticos de primera línea para tratar la Ehrlichiosis Canina. Son antibacterianos de amplio espectro que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas uniéndose al ribosoma bacteriano y atraviesan las membranas celulares. Dentro de esta familia de antimicrobianos, la doxiciclina es el fármaco mayormente evaluado y con mayor eficacia. El grupo de estudio de las enfermedades infecciosas de la ACVIM (American College of Veterinary Internal Medicine) recomienda la doxiciclina 10 mg/kg/24 horas vía oral durante 4 semanas (Couto, G., 2010). Con la administración del mismo, los pacientes presentan una mejoría clínica importante dentro de las 24-48 horas de iniciado el tratamiento y a su vez el recuento plaquetario comienza a aumentar durante este tiempo y se encuentra en su rango normal a los 14 días, aproximadamente (Greene, C., 2006). Los efectos adversos más comunes son náuseas y vómitos por esto es recomendable administrar la droga con el alimento (Plumb, D., 2006). En caninos que no pueden soportar la administración de doxiciclina debido a la anorexia, vómitos y diarrea, está justificada la utilización de fármacos alternativos como la minociclina y hay estudios en los cuales el tratamiento fue eficaz en un pequeño número de caninos (Mylonakis, M. y col., 2019).

Rifampicina: Este fármaco actúa inhibiendo la ARN polimerasa por lo cual suprime la síntesis de ARN. Como efecto colateral, puede decolorar la orina, lágrimas, sudor y saliva, pero no es un efecto perjudicial y debe utilizarse con otras drogas, ya que la administración de rifampicina sola puede generar resistencia rápidamente (Plumb, D., 2006). Se ha evaluado como fármaco alternativo a las tetraciclinas ya que en estudios in vitro, resultó ser tan eficaz contra *E. canis* como la doxiciclina. La dosis diaria total para caninos no debe exceder los 10 mg/kg vía oral (Mylonakis, M. y col., 2019).



Otros fármacos: Se han utilizado o propuesto otros fármacos que antes se creía que eran eficaces, pero datos más recientes demostraron que no son tan eficaces o no hay evidencia en su utilización; por ejemplo, el cloranfenicol, azitromicina, imidocarb y enrofloxacin (Mylonakis, M. y col., 2019). El cloranfenicol ha sido utilizado en cachorros para prevenir la decoloración amarillenta de la dentadura provocada por las tetraciclinas o en infecciones persistentes (Greene, C., 2006).

- ◆ *Trombocitopenia causada por coagulación intravascular diseminada.*

Como mencioné en el capítulo anterior, la CID es causante de trombocitopenia debido al agotamiento grave de plaquetas (recuento medio de 55 a 109 plaquetas/litro) y los factores de la coagulación. Es una patología grave y dinámica que requiere tratamiento de urgencia, ya que los sangrados y la formación de microtrombos tienen efectos graves en distintos órganos.

Los pilares del tratamiento consisten en detener la coagulación intravascular, mantener la perfusión de los órganos parenquimatosos para su correcto funcionamiento y la prevención de complicaciones secundarias. Si bien es fundamental la eliminación de la causa incitante, no siempre es posible. El pronóstico de la enfermedad es grave excepto cuando se controla la causa incitante, el paciente puede recuperarse con un tratamiento adecuado. (Couto, G., 2010). Recordemos que los factores desencadenantes de coagulación intravascular son, entre otros, septicemia, tumores malignos (hemangiosarcoma), pancreatitis, hemólisis intravascular y dilatación vólvulo gástrica. Es decir, que el tratamiento para eliminar la causa desencadenante puede incluir desde antibioticoterapia hasta quimioterapia o cirugía.

Detención de la CID: Para inhibir la trombosis, se procede a la administración de heparina y productos sanguíneos. La heparina actúa sobre los factores de la coagulación de la vía intrínseca y extrínseca: es un cofactor de la antitrombina que a bajas concentraciones inactiva el factor Xa y previene la conversión de protrombina en trombina. En dosis altas inactiva la trombina, bloquea la conversión de fibrinógeno en fibrina y cuando se combina con antitrombina, inactiva los factores IX, X, XI y XII. Los efectos adversos por el uso de la misma, son sangrado y trombocitopenia principalmente (Plumb, D., 2006). La heparina se administra en un amplio rango de dosis, pero se requiere un mínimo de 150 a 250 UI/kg/8 horas vía intravenosa o subcutánea. Al ser un cofactor de la antitrombina, se utilizan dosis bajas y muchas veces en combinación con la transfusión de sangre entera en pacientes con



deficiencia de la misma. La aspirina y otros antiplaquetarios también previenen la activación plaquetaria y detienen la coagulación intravascular en dosis de 0,5 a 10 mg/kg/12 horas vía oral en caninos (Couto, G., 2010).

Mantener perfusión: La función del tratamiento agresivo de líquidos cristaloides o expansores del plasma es diluir los coágulos y factores fibrinolíticos expulsando los microtrombos de la microcirculación y mantener la utilidad de las arteriolas precapilares para que puedan desviar la sangre a zonas en donde el intercambio de oxígeno sea más eficaz (Couto, G., 2010).

Prevención de complicaciones secundarias: Es fundamental mantener la oxigenación y corregir la acidosis metabólica. También prevenir las posibles infecciones bacterianas secundarias y la sepsis, debidas a una mucosa gastrointestinal isquémica que no provee protección contra bacterias patógenas; para evitar esto se puede iniciar un tratamiento precoz con antibióticos y alimentación. El dolor también es una complicación que empeora el cuadro clínico, por lo tanto, debemos agregar a la terapéutica, el uso de analgésicos como los opioides.

- ◆ *Trombocitopenia causada por malignidad (linfoma y hemangiosarcoma).*

La mayoría de los dueños de mascotas con enfermedades oncológicas, casi siempre eligen tratar a los animales, aunque la eutanasia también es una alternativa razonable. Es fundamental incluir a los propietarios como miembros del equipo médico ya que se le pueden asignar tareas como por ejemplo monitorizar la respuesta al tratamiento, medir la temperatura y valorar la actividad del animal. También es importante que el médico explique a los propietarios qué puede ocurrir durante el tratamiento, por ejemplo, los posibles efectos adversos (Couto, G., 2010).

El tratamiento oncológico es más eficaz cuando se instaura de forma agresiva al detectar el tumor en lugar de esperar a que el mismo esté avanzado, es decir, “tratar a lo grande, cuando la enfermedad es pequeña”. Los cuidados paliativos son primordiales para acompañar el tratamiento oncológico y siempre se debe tener en cuenta que hay que mantener o mejorar la calidad de vida del animal durante el mismo (Couto, G., 2010).

Para el tratamiento del linfoma multicéntrico, la quimioterapia es de elección y existen una variedad de protocolos de inducción que son bien tolerados por el paciente. Los que contienen múltiples fármacos son mayormente efectivos para tratar la enfermedad ya que



poseen un tiempo de remisión más duradero: los más utilizados son los protocolos tipo COP (ciclofosfamida, vincristina y prednisona) y los protocolos tipo CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona). Por otro lado, en caninos con hemangiosarcoma, el tratamiento típico es la cirugía combinada con quimioterapia adyuvante en el postoperatorio. Los protocolos más utilizados son el protocolo AC (doxorubicina y ciclofosfamida) y protocolo VAC (vincristina, doxorubicina y ciclofosfamida). La elección del protocolo dependerá de muchos puntos como por ejemplo la disponibilidad del fármaco en el área geográfica, presencia de efectos secundarios a un fármaco previamente utilizado y la experiencia clínica del médico, entre otros.

TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA.

El término “hemoterapia” en Medicina Humana, hace referencia al tratamiento de ciertas enfermedades a través del empleo de sangre y/o sus derivados. Si bien esta especialidad no se encuentra muy avanzada en Medicina Veterinaria, en la última década se han logrado grandes avances en cuanto a transfusiones sanguíneas ya que existen muchas ocasiones o enfermedades en las cuales resulta necesario acudir a este tipo de terapia. Por ejemplo, para reponer glóbulos rojos en casos de anemia, reposición de proteínas plasmáticas como los factores de coagulación y reposición de plaquetas en pacientes con trombocitopenia.

En pacientes con trombocitopenia grave, la transfusión de una variedad de hemoderivados es una terapia de apoyo, principalmente para aquellos que presentan hemorragias espontáneas y como consecuencia disminución del hematocrito por la pérdida de sangre. Cabe recordar que la disminución del número de glóbulos rojos y de hemoglobina en sangre (principal transporte de oxígeno) conlleva a la generación de hipoxia celular, por lo tanto, debe ser compensada para evitar complicaciones en los distintos órganos que se manifiestan con signos clínicos como debilidad, taquicardia, hipotensión, entre otros.

Aunque no es tan utilizada como la transfusión de glóbulos rojos y plasma, la transfusión de plaquetas está indicada para el control de sangrado en pacientes con trombocitopenia grave; si se logra el control del sangrado, las petequias y/o equimosis desaparecerían en 12 horas aproximadamente (Weiss, D., 2011). La administración de plaquetas o de plasma rico en plaquetas en un paciente con trombocitopenia inmunomediada o con coagulación intravascular diseminada, tiene poco o ningún beneficio debido a que, al



haber destrucción periférica de las mismas, serán eliminadas de la circulación inmediatamente luego de la transfusión (Couto, D., 2020).

Si bien podemos obtener unidades de sangre y/o hemoderivados en un banco de sangre (donde se almacena y procesa la misma), en ciudades pequeñas no existe tal posibilidad. Por lo tanto, debemos disponer de un paciente que funcione como dador; esta práctica muchas veces no garantiza que la sangre sea de calidad. A continuación, describiré brevemente cómo llevar a cabo este procedimiento en forma ordenada, segura y eficaz.

Selección del donante.

Para lograr el éxito en una transfusión sanguínea, el primer paso es la adecuada selección del perro donante, que debe cumplir con una serie de requisitos:

- ◆ Adulto joven con un peso de 25 kg o más.
- ◆ Buen estado de salud y libre de enfermedades transmisibles por vía hematógica.
- ◆ De buen temperamento para permanecer quieto durante el procedimiento (no se aconseja el uso de sedantes).
- ◆ Razas con buen acceso venoso (conformación).
- ◆ Sin antecedentes de haber recibido una transfusión previa, ni medicamentos o preñez.
- ◆ Realizar estudios mínimos como: hematocrito, proteínas totales, frotis sanguíneo, perfil renal, perfil hepático, glucemia.

Compatibilidad sanguínea.

Si bien es una buena herramienta, también se la considera compleja y riesgosa debido a que no se encuentra suficientemente difundida en Medicina Veterinaria; aunque en los últimos diez años se han realizado numerosos avances como la tipificación de grupos sanguíneos para que la técnica sea más segura y eficaz (Madriz, E., 2014). Se han identificado varios tipos sanguíneos en caninos designados por el acrónimo DEA (Dog Erythrocyte Antigen) y un número (DEA 1.1 y 1.2, DEA 3, DEA 5, etc.); estos antígenos se encuentran en la membrana eritrocitaria en forma de glucolípidos y/o glucoproteínas, de los cuales el grupo DEA 1.1 es el más inmunogénico ya que estimula la producción de aloanticuerpos (anticuerpos extraños) ocasionando reacciones inmunológicas de rechazo (Zuluaga y col., 2019). En caninos no existen niveles significativos de aloanticuerpos preformados contra grupos sanguíneos ya que los adquieren luego de haber recibido una transfusión, es decir,



necesitan una sensibilización previa. El tiempo necesario para sintetizar nuevos anticuerpos contra determinados grupos sanguíneos en una transfusión es de 4 a 5 días, por lo tanto, no son necesarios estudios de compatibilidad si la segunda transfusión se realiza dentro de este periodo (Fragio y col., 2009).

Para realizar una transfusión en forma segura y eficaz, es necesario conocer el grupo sanguíneo del donante, específicamente evidenciar la presencia del grupo sanguíneo DEA 1; para esto existen kits comerciales rápidos y precisos que, a través de una gota de sangre, en poco tiempo brinda información de si el donante es DEA 1 positivo o negativo. Estos kits rápidos se basan en reacciones de aglutinación que ocurren cuando un eritrocito que contiene DEA 1 en su membrana, interactúa con un anticuerpo monoclonal específico para DEA 1.

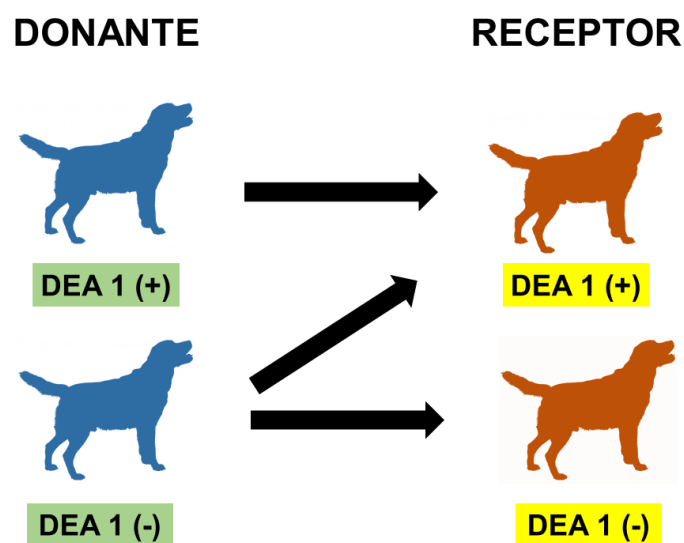


FIGURA N° 51: COMPATIBILIDAD SANGUÍNEA. FUENTE PROPIA.

Aunque el donante sea DEA 1 (-) (universal) es necesario realizar pruebas cruzadas o Cross Matching. También se encuentran disponibles en forma de kits comerciales y determinan la presencia de inmunoglobulinas G y M en el plasma del donante y del receptor. Básicamente la prueba denominada “mayor” determina la presencia de anticuerpos en el receptor contra los antígenos de los glóbulos rojos del donante; y la prueba “menor” determina la presencia de anticuerpos en el donante contra los glóbulos rojos del receptor. Si como resultado de la prueba mayor se produce hemólisis o aglutinación, no se podrá realizar la transfusión debido a que el receptor tiene anticuerpos contra los eritrocitos del donante; en cambio si esta reacción se produce en la prueba menor, se puede realizar la transfusión, pero monitoreando el paciente (Fragio y col., 2009).



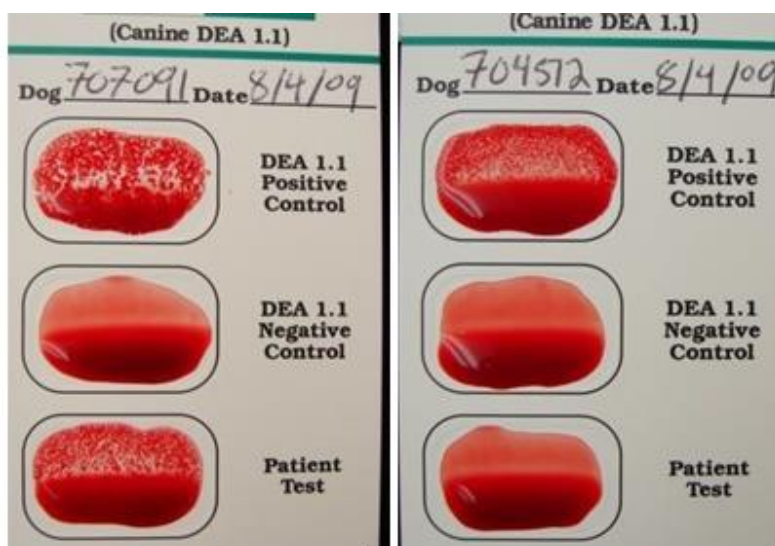


FIGURA N° 52: TEST RÁPIDO DE AGLUTINACIÓN PARA DETECTAR ANTÍGENO DEA1. EXTRAÍDO DE LA WEB RAPID VET.

A la izquierda (DEA 1 positivo) y a la derecha (DEA 1 negativo).

Procedimiento (extracción y administración).

Para un procedimiento tranquilo y seguro, en primer lugar, es importante la selección del lugar físico donde se llevará a cabo. La sala o habitación debe ser un lugar tranquilo y libre de ruidos molestos con todos los materiales necesarios. Si bien, la mayoría de las veces no se requiere sedación, hay casos en los cuales es necesaria y aquí debemos evitar los tranquilizantes hipotensivos como la acepromacina.



FIGURA N° 53: EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA TRANSFUNDIR. EXTRAÍDO DE WEB CLINICIAN'S BRIEF.



El sitio de punción utilizado es la vena yugular, que debe estar previamente tricotomizado y desinfectado (Madriz, E., 2014). El paciente debe ser ubicado en decúbito esternal o lateral; ingurgitando la vena se procede a la recolección de sangre que se realiza en bolsas comerciales (generalmente utilizadas en humanos) de 450 ml que contienen anticoagulante y conservante; las mismas deben ubicarse más bajas que el paciente y en agitación continua (Fragio y col., 2009). Estos sistemas de recolección de sangre son estériles y herméticos y permiten un posterior procesamiento y almacenamiento de los componentes sin exposición al medio ambiente; la bolsa primaria puede tener bolsas satélites adjuntas que se utilizan para la separación de componentes (Weiss, D., 2011). Es importante rotular las mismas con la fecha y hora de la extracción, la cantidad de mililitros obtenidos y la identificación del donante. También, la sangre debe mantenerse refrigerada a temperaturas entre 1 y 6 °C hasta su utilización (excepto si es utilizada para proporcionar plaquetas, mantener a temperatura ambiente).



FIGURA N° 54: SISTEMA DE EXTRACCIÓN DE SANGRE (BOLSAS DE 450 ML Y BOLSA SATÉLITE). EXTRAÍDO DE (SINK, C., 2017)

Antes de administrar el producto, se debe recalentar la bolsa a baño maría (37°C). Junto con las bolsas de extracción, se encuentra disponible un kit para la administración, que presenta un filtro para la eliminación de coágulos. La sangre se administra a través de un catéter intravenoso en la vena yugular, vena cefálica o vía intraósea en animales pequeños o recién nacidos; con respecto a las dosis a administrar, una regla práctica es que 2,2 ml/kg de sangre transfundida elevarán el hematocrito en 1% si el donante tiene un hematocrito de 40% (Couto, G., 2020). La administración de plasma es “a – efecto” y el concentrado de



plaquetas se administra en una dosis de una unidad cada 10 kg de peso. La transfusión se debe completar en menos de 4 horas para evitar riesgos de contaminación.

Indicaciones.	Producto.	Volumen.
Anemias hipovolémicas (hemorrágicas).	Sangre entera fresca o concentrado de glóbulos rojos.	10 – 20 ml/kg.
Anemias normovolémicas (hemolíticas).	Concentrado de glóbulos rojos.	6 – 10 ml/kg.
Trombocitopenia.	Concentrado plaquetas (plasma rico en plaquetas) o sangre entera fresca.	1 unidad/10 kg cada 8 - 12 horas. 10 – 20 ml/kg cada 24 horas.
Deficiencia de factores de la coagulación o hipoproteinemia.	Plasma fresco congelado o plasma fresco. Sangre entera fresca.	6 – 12 ml/kg cada 8 – 12 horas. 10 – 20 ml/kg.
Enfermedad de von Willebrand.	Plasma fresco o fresco congelado.	6 – 12 ml/kg cada 8 – 12 horas.

TABLA N° 5: PRODUCTOS SANGUÍNEOS, INDICACIONES Y DOSIS. EXTRAÍDO DE (FRAGIO Y COL., 2009).

Post transfusión: reacciones adversas.

En el momento de la transfusión y luego de la misma, se debe monitorear el paciente para detectar precozmente posibles signos producidos por reacciones adversas; tomar el pulso, la frecuencia cardíaca y respiratoria, temperatura, color de las mucosas y tiempo de llenado capilar. Las reacciones adversas se clasifican en:

- ◆ **Inmunomediadas:** son reacciones de hipersensibilidad de tipo I o reacciones de hemólisis. El paciente presentará temblores, taquicardia, taquipnea, aumento de temperatura, vómitos, urticaria, entre otros. Si esto sucede, se debe suspender la transfusión y administrar corticoesteroides de acción rápida junto con fluidoterapia con cristaloides (Fragio y col., 2009).
- ◆ **No inmunomediadas:** por ejemplo, la sobrecarga del volumen, contaminación con microorganismos, hipocalcemia por exceso de anticoagulante, reacciones febriles y vómitos (Fragio y col., 2009).



Terapias Alternativas: Medicina Holística.

Las terapias anteriormente mencionadas de la medicina convencional (enfoque alopático), se centran en los síntomas de la enfermedad y muchas veces resultan extremadamente costosas para los propietarios y no siempre son eficaces; también muchas veces provocan numerosos efectos adversos que no son tolerados por el paciente. Si bien es muy efectiva en muchos casos, en otros es ineficaz o produce graves efectos secundarios a largo plazo.

Explicado brevemente, el enfoque holístico trata a un paciente que enferma por un desequilibrio físico, emocional, espiritual, social y ambiental; por lo tanto, se ocupa del cuerpo, la mente y el alma del paciente priorizando el bienestar animal y acompañándolo en todo su proceso. Es decir, se considera al paciente como “un todo”. Dentro de las terapias holísticas podemos mencionar: homeopatía, acupuntura, fitoterapia, terapia floral (flores de Bach) y la implementación de un cambio de dieta, que, a mi parecer es una de las principales.

Particularmente, en un paciente que presenta una enfermedad autoinmune o inmunomediada (trombocitopenia inmunomediada), el enfoque holístico tendrá como objetivo modular el sistema inmunitario y volver a establecer el equilibrio. También se centra en disminuir la inflamación y reparar el tracto digestivo. Otros hábitos que benefician a la prevención o al tratamiento de las enfermedades y que también sirven como un complemento son el ejercicio, un entorno de vida sin estrés y la exposición mínima a toxinas.



CAPÍTULO V: REPORTE DE UN CASO CLÍNICO.

La orientación práctica profesional en pequeños animales tiene como objetivos principales, según lo que indica el plan de estudios de la Universidad Nacional de Rio Negro *“reunir contenidos adquiridos en materias previas y realizar una rutina de pasos diagnósticos que incluyan reseña, anamnesis y exploración semiológica; además reconocer síndromes clínicos médicos y quirúrgicos para aplicar con criterio científico el tratamiento para cada patología”* (www.unrn.edu.ar). El Hospital Escuela de Medicina Veterinaria (HeMeVe) es el lugar físico donde se realizan las prácticas profesionales de pequeños animales; es el más austral de la República Argentina y uno de los más modernos de Latinoamérica. Se encuentra ubicado en la calle Malinche N° 1086, en Ruta Nacional N°22 a la altura del kilómetro 998, de la localidad de Choele Choel, provincia de Rio Negro.

El Hospital Escuela cuenta con un predio de 12 hectáreas, en las cuales se encuentra el pabellón de necropsia y patología general, el edificio de aulas y laboratorios que actualmente están en construcción y el hospital propiamente dicho. Así mismo, el Hospital Escuela se divide para su atención, en área de grandes animales y área de pequeños animales. Esta última, en particular, está constituida por la recepción y sala de espera, dos consultorios, área de internación, vestuario para estudiantes y personal que trabaja en el hospital, farmacia, laboratorio de análisis clínicos, pre-quirófano y quirófano con sala de esterilización y lavado, sala de rayos X y sala de ecografía.



FIGURA N° 55: IMAGEN SATELITAL (HEMEVE). FUENTE GOOGLE EARTH.

Como requisito fundamental para obtener el título de Médico Veterinario y para realizar el presente informe final, presencié cuatro meses de prácticas hospitalarias en las cuales se



estudiaron sesenta y tres casos clínicos, en su gran mayoría pacientes de la especie canina y en minoría pacientes de la especie felina, que asistieron al Hospital Escuela. A continuación, procedo a describir el caso clínico que más llamó mi atención y el cual me motivó a profundizar en este tema; al igual que en el resto de los casos clínicos, se realizó el examen clínico de forma ordenada, se recopilaron datos y se interactuó con los propietarios del paciente.



FIGURA N° 56: PRACTICAS HOSPITALARIAS EN HOSPITAL ESCUELA. FUENTE PROPIA.



Historia Clínica 752 “Theo”.



FIGURA N° 57: PACIENTE THEO. FUENTE PROPIA.

Cada paciente que ingresa a la institución tiene un número determinado de historia clínica. Cossio (1940) define como historia clínica “*la constancia escrita de todas las comprobaciones realizadas en el examen médico, como también de todas las efectuadas en el curso de la evolución y de los tratamientos instituidos aún por terceros*” (Historia clínica – Universidad de Buenos Aires, Facultad de ciencias veterinarias, 2017). Dicha herramienta consiste en la reseña del paciente, anamnesis, examen objetivo general, diagnósticos presuntivos, métodos complementarios y tratamiento aplicado, entre otros. La importancia de la misma radica en el orden de la aplicación del examen clínico, recopilar datos y prácticas realizadas en pacientes y como forma de interacción entre profesionales que atienden a un mismo animal. Dentro de la institución tiene una gran función para alumnos y docentes, en investigación y docencia.

Reseña.

La reseña recopila datos que caracterizan a un animal como la especie, raza, sexo, edad y peso: estos son de gran importancia ya que orientan al clínico a un diagnóstico más



certero de enfermedades que están presentes en animales de un tipo particular de raza o trastornos relacionados con la edad en animales jóvenes o gerontes.

El día 21 de agosto del año 2019 acuden los propietarios con Theo, provenientes de Sierra Colorada – Rio Negro, al Hospital Escuela de Medicina Veterinaria.

- ◆ Sexo: Macho castrado.
- ◆ Edad: 11 años.
- ◆ Raza: *Viejo Pastor Ingles*.
- ◆ Pelaje: largo, blanco y gris.
- ◆ Peso: 32 kilogramos.

Anamnesis.

Otro punto importante en el examen clínico, es la anamnesis. En esta instancia los alumnos y los docentes a cargo, tenemos la oportunidad de comunicarnos e interactuar con el propietario del paciente sobre el motivo de consulta y nos brinda información valiosa sobre el comportamiento del animal en el entorno que lo rodea habitualmente.

*Motivo de consulta: **Epistaxis bilateral.***

Las hemorragias de origen nasal, son signos frecuentes en la clínica y pueden ser el resultado de causas locales (intra nasales) o sistémicas (extranasales). Dentro de las causas locales podemos mencionar neoplasias como pólipos y linfoma, infección bacteriana, rinitis micótica, enfermedad dental con fístula oronasal y malformaciones arteriovenosas, entre otros. Las causas sistémicas más comunes son trombocitopenia o trombocitopatía, defectos en los factores de coagulación, coagulopatías adquiridas (intoxicación por rodenticidas) y aumento de la fragilidad capilar (Thompson, M., 2008).

Los propietarios relatan qué, el sangrado comenzó de manera unilateral y luego pasó a ser bilateral; se encuentra bien de ánimo, se alimenta y bebe agua con normalidad. Anteriormente no ha tenido episodios de hemorragia. Su padre, con el cual convivía, falleció con diagnóstico de “linfoma”. Su calendario de vacunación y desparasitación se encuentra al día y no han viajado hacia otras provincias (asociadas con enfermedades infecciosas); también, se los indagó acerca del uso de rodenticidas en la vivienda, pero no es una sustancia



que utilicen habitualmente. Además, se los interrogó sobre tratamientos y enfermedades previas o recientes del paciente: ellos comentan que hace aproximadamente menos de un mes, se encontraba decaído, anoréxico con vómitos y diarrea. El profesional, encargado de la atención en ese momento, en base a los estudios solicitados y al examen clínico emitió un diagnóstico presuntivo correspondiente con “pancreatitis”, de la cual evolucionó favorablemente. El tratamiento instaurado contaba con:

- ◆ Fluidoterapia: Rehidratante y reconstituyente para equinos deportivos. *No especifica dosis.*
- ◆ Antibioticoterapia: sulfamidas + trimetoprim comprimidos/vía oral y amoxicilina. *No especifica dosis.*
- ◆ Protector hepático: contiene silimarina, colina y metionina. Jarabe vía oral. *No especifica dosis.*
- ◆ Vitamínico reconstituyente (estimulante del apetito): Jarabe vía oral. *No especifica dosis.*

Por último, se les consulta sobre la presencia de otros signos clínicos como estornudos, estertores e intolerancia al ejercicio (los mismos pueden estar relacionados con trastornos de las vías respiratorias superiores o inferiores) pero los propietarios relatan que Theo no los presentó en ningún momento.

(14/06/2019).

- ◆ **Hemograma:**
Hematocrito: 39%.
Leucocitos 45600/mm³. (Nt. cayado 0%; Nt. Segmentado 91%; Eosinófilos 0%; Basófilos 0%; Linfocitos 5%; Monocitos 4%).
- ◆ **Bioquímica sanguínea:**
Hepatograma:
 - GPT: 65 U/L.
 - GOT: 16 U/L.
 - Fosfatasa alcalina: 672 U/L.Perfil renal:
 - Urea: 0,76 g/l.
 - Creatinina: 21,9 mg/l.Glucemia: 0,48 g/l.

FIGURA N° 58: THEO, ESTUDIOS PREVIOS. FUENTE PROPIA.



(16/08/2019).

◆ **Hemograma:**

Hematocrito: 33%.

Leucocitos: 10.300/mm³ (Nt. cayado 1%; Nt. Segmentado 68%; Eosinófilos 8%; Basófilos 0%; Linfocitos 23%; Monocitos 0%).

◆ **Bioquímica sanguínea:**

Hepatograma:

- GPT: 13 U/L.
- GOT: 5 U/L.
- Fosfatasa alcalina: 119 U/L.

Glucemia: 0,69 g/l.

Amilasemia 521 UA/dl.

Uremia: 0,52 g/l.

FIGURA N° 59: THEO, ESTUDIOS PREVIOS. FUENTE PROPIA.

Exploración clínica.

El examen físico es un paso clave para la búsqueda de un diagnóstico o sospecha del mismo. Comprende el examen objetivo general y el examen objetivo particular. El primero incluye una exploración a distancia en la que se evalúa constitución, estado de nutrición, piel, comportamiento, sensorio, facies y marcha: como indica el aforismo **“la primera sin tocar”**. En esta instancia también se realiza un examen próximo al animal, para evaluar parámetros fisiológicos (signos vitales), que consiste en evaluar la temperatura corporal, explorar mucosas aparentes y linfonódulos superficiales, frecuencia respiratoria y cardiaca, pulso arterial y porcentaje de deshidratación. En segundo y último lugar en cuanto a la exploración clínica, el examen objetivo particular comprende la exploración de órganos y sistema de órganos, a través de métodos físicos de exploración como la inspección, palpación, percusión, auscultación y olfacción.

Al finalizar la exploración clínica, estaríamos en condiciones de emitir un diagnóstico presuntivo o sospecha de una enfermedad/alteración, que será confirmado/a o no a través de la indicación o pedido de estudios complementarios.



Examen objetivo general: en el examen a distancia del paciente (Theo), no se observaron anomalías. Presentaba un comportamiento y sensorios normales, atento al entorno y su estado de nutrición era óptimo, al igual que su pelaje. En cuanto a los signos vitales, se examinaron los siguientes:

- ◆ *Frecuencia cardíaca:* 124 latidos/minuto.
- ◆ *Frecuencia respiratoria:* 36 respiraciones/minuto.
- ◆ *Temperatura rectal:* 39 °C.
- ◆ *Linfonódulos superficiales:* Sin anomalías.
- ◆ *Exploración de mucosas aparentes:* Se evaluaron mucosa nasal, oral y peneana.

En mucosa nasal se observó una secreción escasa de color rojizo e intermitente que afecta ambas fosas nasales, de consistencia líquida (hemorrágica) con distribución difusa en los pelos que rodean la nariz y la boca (epistaxis). En mucosa oral se observaron múltiples lesiones, por encima de las encías, de color rojizo no mayores a 2 milímetros las cuales en ciertas regiones se encuentran distribuidas en forma focal y en otras se “fusionan”. Estas lesiones concuerdan con lesiones petequiales o equimóticas. Por último, en mucosa peneana se observaron múltiples lesiones rojizas, redondeadas y focales de un tamaño menor a los 2 milímetros, con aspecto de “cabeza de alfiler”; las mismas son concordantes con lesiones petequiales.



FIGURA N° 60: THEO. EPISTAXIS. FUENTE PROPIA.





FIGURA N° 61: THEO, LESIONES PETEQUIALES Y EQUIMÓTICAS. FUENTE PROPIA.



FIGURA N° 62: THEO, MUCOSA PENEANA CON PETEQUIAS. FUENTE PROPIA.

Examen objetivo particular: en primer lugar, se realizó el examen del sistema respiratorio principalmente de las vías aéreas superiores e inferiores para poder determinar el origen del sangrado y así tratar de identificar la causa del mismo. Se debe tener en cuenta que las vías nasales de los caninos son difíciles de explorar, por lo tanto, es necesario evaluar el motivo de consulta en conjunto con otros signos clínicos presentes en diferentes órganos/sistemas. Por este motivo, se procedió a examinar el sistema tegumentario en búsqueda de otras lesiones hemorrágicas y en base a esto, se solicitaron los estudios complementarios.

◆ **Sistema respiratorio (vías superiores):**



En la inspección externa de las fosas nasales y de la cavidad nasal, se observó una correcta abertura y simetría; sin presencia de heridas, pero con secreción sanguinolenta descrita anteriormente. No se realizó la inspección interna de la misma debido a la compleja anatomía de la cavidad nasal de los caninos; para esto se sugiere la realización de estudios complementarios, como la rinoscopia que se realiza mediante la utilización de un endoscopio rígido o flexible. Aquí podríamos evaluar la mucosa, luz, presencia de cuerpos extraños, entre otros.

En cuanto a la palpación, se evaluaron tanto las partes blandas (ollares) como las partes duras (senos paranasales, tabique nasal) a punta de dedo. El paciente no presentó dolor y las estructuras evaluadas tenían una consistencia y elasticidad normales. También, se evaluó la secreción sanguinolenta, la cual era escasa y de aparición bilateral. Macroscópicamente, de aspecto hemorrágico y consistencia fluida. En cuanto al olor, era inodora. Esta hemorragia se manifestaba en forma de gotas, **epistaxis** (a diferencia de la rinorrea en la cual la hemorragia es “a chorros”).

◆ *Sistema respiratorio (vías inferiores):*

El paciente presentó un número de movimientos respiratorios por unidad de tiempo normal, de amplitud y tipo también normales. Además, se procedió a la auscultación del área pulmonar en la cual el sonido era el habitual, suave y bajo (murmullo vesicular). Ausencia de rales bronquiales y alveolares (los mismos pueden estar presentes, por ejemplo, cuando hay masas ocupantes).

◆ *Sistema tegumentario.*

Principalmente se realizó la examinación de la piel en búsqueda de lesiones hemorrágicas tanto en la piel como en uniones mucocutáneas; para esto, se procedió a abrir el manto, debido a que el paciente presentaba gran cantidad de pelo.

Ocultas, por la gran cantidad de pelo, se observaron lesiones hemorrágicas concordantes con sufusiones y equimosis principalmente en la zona del tren posterior. Además, la zona del ano (específicamente la unión mucocutánea) se encontraba edematizada y con efusión hemorrágica, por su aspecto rojizo. También, la piel de esta zona, se encontraba seca.





FIGURA N° 63: THEO, LESIONES HEMORRÁGICAS EN PIEL Y ANO. FUENTE PROPIA.

◆ **Tiempo de sangrado.**

Por último, determinamos el tiempo de sangrado a partir de una incisión realizada en el pabellón auricular interno. Recordemos que los tiempos normales en un animal sano son de 2 a 3 minutos; en el caso particular de Theo, el tiempo de sangrado fue mayor a 3 minutos. Esta prolongación en el tiempo es indicativa de trombocitopenia.

Diagnóstico presuntivo.

En base a la anamnesis y los signos clínicos presentes en Theo, el diagnóstico presuntivo que emitimos fue: **TROMBOCITOPENIA IDIOPÁTICA/INMUNOMEDIADA**. Este diagnóstico está sujeto a variaciones hasta determinar o no la causa de la enfermedad (diagnóstico etiológico).

Diagnósticos diferenciales.



- ◆ *Trastornos de la hemostasia primaria (trombopatías – enfermedad de von Willebrand):* Las alteraciones en la función de adhesión y agregación plaquetaria, pueden afectar en la normal formación del tapón hemostático primario. Esta enfermedad se caracteriza por petequias/equimosis/sangrado de mucosas, pero la mayoría de los pacientes no poseen sangrados espontáneos. También las pruebas del perfil hemostático básico son normales, pero el tiempo de sangrado puede ser prolongado (Couto, G., 2010).
- ◆ *Trastornos de la hemostasia secundaria (deficiencia de factores de la coagulación, deficiencia de vitamina K):* Estos pacientes presentan signos clínicos como disnea, intolerancia al ejercicio, distensión abdominal y rara vez petequias y equimosis o sangrado de mucosas (melena, epistaxis) (Couto, G., 2010).
- ◆ *Trastorno de la hemostasia mixto (coagulación intravascular diseminada):* Como mencioné anteriormente, la CID puede presentarse en forma crónica silente o en forma aguda. La forma aguda se caracteriza por hemorragias profusas espontáneas en forma de petequias, equimosis y hemorragia de las mucosas y además sangre contenida en cavidades corporales. Como consecuencia de la isquemia de órganos y tejidos producida por los trombos, los mismos no funcionan correctamente.
- ◆ *Tumores nasales (carcinoma, linfoma, tumor venéreo transmisible, pólipos):* Las neoplasias generalmente inician con secreción hemorrágica unilateral que se convierte en bilateral cuando se destruye el tabique nasal. Generalmente en animales de edad avanzada y la mayoría presentan secreción nasal como signo clínico más frecuente; también estornudos y deformación de huesos faciales (Couto, G., 2010).
- ◆ *Tumores pulmonares (carcinoma, adenocarcinoma, linfoma):* al igual que los tumores nasales, son más habituales en animales de edad avanzada y los signos clínicos más frecuentes son intolerancia al ejercicio, esfuerzos respiratorios, tos y hemorragia pulmonar (Couto, G., 2010).
- ◆ *Cuerpo extraño.*
- ◆ *Trauma.*
- ◆ *Enfermedad dental con fístula oronasal.*
- ◆ *Rinitis micótica.*

Métodos complementarios.

Los métodos complementarios de diagnóstico son un conjunto de estudios que nos aportan información muy útil para confirmar o dar mayor certeza al diagnóstico de una



patología, es decir, son necesarios para una mayor calidad y eficiencia en la instauración de nuestro diagnóstico. Si bien son muy necesarios, nunca reemplazarían a la exploración clínica del paciente, realizada por un médico en el consultorio.

Luego de una exploración clínica del paciente, suficientemente orientativa, se procedió a la solicitud de los estudios complementarios que describiré a continuación. Como mencioné anteriormente, estos métodos son una pieza más del rompecabezas, que en conjunto con la exploración clínica nos permiten emitir un diagnóstico.

Radiografías (Rx).

En primer lugar, se procedió a la solicitud de radiografías de cráneo de incidencias látero-lateral y ventrodorsal para observar la cavidad nasal y confirmar/descartar la presencia de masas ocupantes. Si bien, este método no es el recomendado para evaluar la cavidad nasal debido a la gran superposición de tejidos de la zona, es el que estaba a nuestro alcance: podríamos detectar alguna anomalía si hay opacidad de los tejidos blandos, pérdida de detalle de los cornetes nasales o invasión de los huesos de la cavidad (lesiones osteolíticas). Al observar ambas incidencias, no se detectaron anomalías en el paciente.

Además, se solicitó una radiografía simple de tórax, de incidencia látero-lateral, para evaluar la silueta y la ubicación de laringe y tráquea y también la presencia o no de un patrón pulmonar (ambos normales). Recordar que, los patrones pulmonares son signos radiológicos producidos por un aumento en la radiopacidad (por ejemplo, en patologías tumorales o metastásicas, es frecuente observar patrones pulmonares de tipo alveolar y/o intersticial). En la radiografía del paciente no se observaron alteraciones.





FIGURA N° 64: THEO, RADIOGRAFÍAS LATERO-LATERAL Y VENTRODORSAL DE CRÁNEO. FUENTE PROPIA.



FIGURA N° 65: THEO, RADIOGRAFÍA LATERO-LATERAL DERECHA DE TÓRAX. FUENTE PROPIA.

Análisis clínicos.

Se solicitó al área de laboratorio del Hospital Escuela, los siguientes estudios:



- ◆ *Frotis de sangre periférica* (Figura N° 64): En la visualización de más de seis campos no se observaron plaquetas. Ausencia de hemoparásitos.
- ◆ *Perfil hemostático básico* (Figura N° 65): TP (Tiempo de protrombina), APTT (Tiempo de tromboplastina parcial activada), recuento de plaquetas, tiempo de coagulación en tubo.

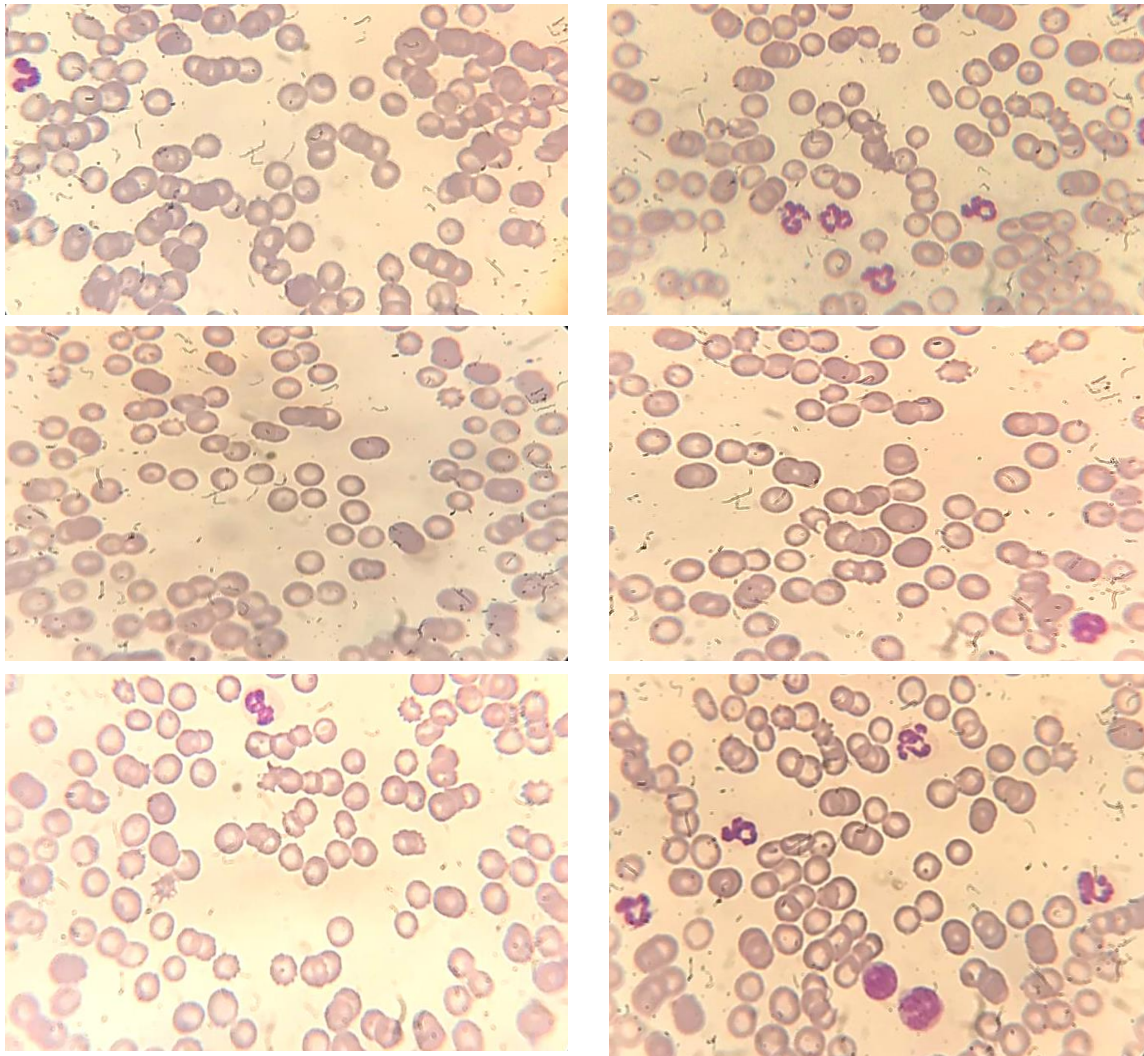


FIGURA N° 66: THEO, FROTIS SANGUÍNEO (OBJETIVO 100X ACEITE DE INMERSIÓN; TINCIÓN MAY- GRÜN WALD GIEMSA). FUENTE PROPIA.





**HOSPITAL ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
UNRN
Sede Alto Valle-Valle Medio**

INFORME LABORATORIO ANÁLISIS CLÍNICOS				N°00428
Historia clínica N°	00752	Fecha de ingreso/alta	21/08/2019	
Apellido y nombre		Domicilio		
Ciudad	CP	TE		
TE cel		e-mail	-	
Especie	Canino	Raza	Sexo	Macho Edad
Nombre	TEO	Microchip		
Veterinario:.....				
PRUEBAS DE COAGULACION				
TIEMPO DE PROTOMBINA	Seg	9	5-9 Seg	
K.P.T.T	Seg	22	8-20	
TIEMPO DE COAGULACION EN TUBO	Min	7	6.30- 10	
Observaciones: Recuento de plaquetas ≤ 150.000				

FIGURA N° 67: THEO, PERFIL HEMOSTÁTICO BÁSICO. FUENTE PROPIA.

Discusión.

En base a los resultados obtenidos de los métodos complementarios, logramos confirmar que el paciente presentaba un recuento de plaquetas disminuido, así como también, descartar otras enfermedades con signos clínicos similares como neoplasias de origen nasal/pulmonar o metástasis, trastornos en la coagulación secundaria, entre otros. Debido a no tener acceso a estudios más complejos para determinar la causa/etiología del trastorno, el diagnóstico definitivo emitido fue “Trombocitopenia inmunomediada/idiopática”, para el cual establecimos la terapia.

Terapéutica.



Debido al desconocimiento de la etiología de la enfermedad, nos basamos en la información obtenida de la reseña, anamnesis, exploración clínica y de los métodos complementarios para instaurar un tratamiento empírico basado en la administración de dosis altas de prednisolona para controlar el proceso inmunomediado. Como mencionamos anteriormente, la prednisolona es un fármaco de primera línea ya que posee amplios efectos inmunosupresores, su inicio de acción es rápido y es de bajo costo; actúa disminuyendo la actividad fagocítica de los macrófagos esplénicos y hepáticos y suprime la inmunidad mediada por células, entre otros mecanismos.

Se le indicó al paciente la administración de dosis altas o de ataque de prednisolona (**7 mg/kg/día vía oral**) y la realización de un conteo plaquetario y hematocrito luego de una semana o diez días. Según los signos clínicos, la dosis se podía disminuir un 50% o menos cada una semana (recordar que las respuestas se observan dentro de las 24 a 96 horas).

A su vez, debido a los efectos adversos que producen los glucocorticoides sobre la pared gástrica, se le indicó la administración de ranitidina (**2 mg/kg/12 hs vía oral**).

Evolución.

El paciente evolucionó favorablemente los primeros cuatro días de la terapia, debido a que el mismo dejó de presentar sangrado nasal (epistaxis); por lo tanto, se les indicó a los propietarios disminuir la dosis de prednisolona a 5 mg/kg/día vía oral. En cuanto a los análisis de laboratorio, el valor obtenido de hematocrito en ese momento fue 27% y el número de plaquetas 99.000 plaquetas/mm³.

Debido a que el paciente comenzó con epistaxis nuevamente luego de la disminución de la dosis de prednisolona y sumado a que los resultados de laboratorio no eran del todo favorables, se decidió mantener dosis altas de prednisolona y comenzar a indagar nuevamente sobre la etiología de la enfermedad. Otras de las posibilidades era combinar la administración de glucocorticoides con fármacos de primera/segunda línea, que describí en el capítulo anterior.





FIGURA N° 68: THEO, EVOLUCIÓN. FUENTE PROPIA.

Luego de unos días los propietarios relataron que, además de persistir la epistaxis, Theo no se encontraba bien: estaba decaído, no se alimentaba ni bebía agua y además presentaba dificultad para respirar. El paciente recibió atención de apoyo, pero lamentablemente falleció en pocos días.



CONCLUSIÓN.

Todo lo expuesto anteriormente, me permitió comprender en profundidad la importancia del tercer componente de la sangre: *las plaquetas*. Estas células poco tenidas en cuenta, pero esenciales, tienen numerosas funciones en los procesos orgánicos como en la inflamación, inmunidad, neovascularización, cicatrización y hemostasia. Es por ello que considero necesario que como estudiantes y futuros Médicos Veterinarios nos familiaricemos con la fisiología de las mismas que muchas veces nos resulta costosa, saber de dónde provienen y cómo se observan normalmente en un microscopio para luego comprender las patologías que afectan el sistema hematopoyético presentes en la clínica diaria y de esta manera, mejorar la calidad de vida del paciente gracias al diagnóstico precoz y al tratamiento de las mismas.

Frente a una patología plaquetaria, como la trombocitopenia, *la clínica es soberana*: es fundamental la comunicación con los encargados de nuestros pacientes y la exploración clínica en una simple “camilla” nos aporta gran cantidad de datos de valor. Como complemento a la clínica y en estrecha relación, considero al hemograma completo y otros estudios laboratoriales sumamente necesarios para el diagnóstico de estas patologías; el hemograma es una herramienta muy valiosa para los Médicos Veterinarios y su interpretación es esencial. En el caso de los trastornos hemostáticos, es una de las primeras pruebas a realizar en estos pacientes y es la que nos brinda las primeras sospechas de esta alteración.

Para los Médicos Veterinarios, no es de rutina realizar un pedido de conteo plaquetario en un frotis sanguíneo, es por esto que las alteraciones cuantitativas plaquetarias son poco diagnosticadas pero muy frecuentes: por ejemplo, la trombocitopenia inmunomediada es una de las enfermedades hematológicas más frecuentes en caninos. El diagnóstico específico de la misma puede resultar un gran desafío para el profesional ya que desafortunadamente, hoy en día se realiza por exclusión e instaurando una terapia empírica. Aún siguen siendo en gran parte desconocidas, tanto en Medicina Humana como en Veterinaria, las enfermedades autoinmunes o inmunomediadas.

Por último, me parece necesario destacar el rol del Médico Veterinario en la prevención de estas enfermedades: considero que es fundamental brindar conocimientos a los propietarios sobre las enfermedades más comunes que pueden afectar a su mascota. También me parece necesario controlar su salud con chequeos médicos anuales y concientizar al propietario sobre la importancia que posee la alimentación de los animales en la presentación de las enfermedades: hoy en día la forma en la que alimentamos a nuestras



mascotas está en constante discusión ya que muchas enfermedades emergentes, poseen una causa etiológica nutricional.



BIBLIOGRAFÍA.

Arauz, M. S., Scodellaro, C. F., & Pintos, M. E. (2020). Atlas de hematología veterinaria. *Libros de Cátedra*.

Arias, D. O., Rodríguez, R. R., & Aprea, A. N. (2020). Métodos complementarios de diagnóstico. *Libros de Cátedra*.

Barrientos, M. A. (2010). Coagulación intravascular diseminada. *Iatreia*, 23(4), ág-344.

Baute, R. G., Alfonso, T. G., Salabert, L. D., Águila, J. D. F., & Zamora, M. C. (2011). Teoría celular de la coagulación: de las cascadas a las membranas celulares. *MediSur*, 9(2), 65-74.

Bermejo, E. (2017) Fisiología de la hemostasia normal HEMATOLOGÍA Volumen 21 N° Extraordinario: 7-9 l.

Bloom, J. C., Thiem, P. A., Sellers, T. S., Lewis, H. B., & Deldar, A. (1988). Cephalosporin-induced immune cytopenia in the dog: demonstration of erythrocyte-, neutrophil-, and platelet-associated IgG following treatment with cefazedone. *American journal of hematology*, 28(2), 71-78.

Borrás, P., Sánchez, J., Guillemi, E. C., De La Fourniere, S., Abadia, M., Farber, M. D., & Santini, M. S. (2019). *Detección de bacterias de los géneros Ehrlichia, Anaplasma y Rickettsia en garrapatas Rhipicephalus sanguineus sl en Pergamino, Argentina*. Ministerio de Salud de la Nación, Argentina.

Borrás, P. (s. f.). Actualización sobre Ehrlichiosis canina en Argentina – Selecciones Veterinarias. Recuperado 6 de abril de 2021, de <https://www.seleccionesveterinarias.com/nota/857-abordajes-quir%C3%83%C2%BArgicos-en-traumatolog%C3%83%C2%ADa>.

Cazaux, N., Meder, A., Calvo, C., Bertoldi, G., Miguel, M., & Hartfiel, L. (2019). Dirofilariasis canina: una parasitosis emergente favorecida por el cambio climático. Canine Dirofilariasis, an emerging parasitism favoured by climate changes. *Ciencia Veterinaria*, 21(1), 69-80. doi:<https://doi.org/10.19137/cienvet-201921105>.



Ceresetto, J. (2017) Fisiología de la hemostasia normal HEMATOLOGÍA Volumen 21 N° Extraordinario: 7-9 I.

Cugliari, N. (2015). Neutropenia cíclica en Collies: monografías de alumnos. Desde Mendel hasta las moléculas. <https://genmolecular.com/>.

Day, M. J., Mackin, A., & Littlewood, J. D. (2000). *BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. British Small Animal Veterinary Association.

Dodds, W. J., & Laverdure, D. (2014). *Canine nutrigenomics: the new science of feeding your dog for optimum health*. Dogwise Publishing.

Donald C. Plumb, (2006). Manual de farmacología veterinaria quinta edición. Intermédica Editorial, Buenos Aires-República Argentina.

Espinosa, G., & Reverter, J. C. (2001). Coagulación y fibrinólisis plasmática. Estados de hipercoagulabilidad. *Med. integral (Ed. impr)*, 156-166.

Fragío, C., Daza, M., & García, E. (2009). Transfusiones sanguíneas en perros y gatos. *Clínica veterinaria de pequeños animales*, 29(4), 0229-238.

Gibson, G., & Abrams-Ogg, A. (2012). Canine transfusion medicine. In *BSAVA manual of canine and feline haematology and transfusion medicine* (pp. 289-307). BSAVA Library.

González-Villalva, A., Bizarro-Nevarés, P., Rojas-Lemus, M., López-Valdez, N., Ustarroz-Cano, M., Barbosa-Barrón, García-Gil, B., Albarrán-Alonso J., Fortoul van der Goes, T. I., (2019). El megacariocito: una célula muy original. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 62(1), 6-18.

Gorman, N. T., & Werner, L. L. (1986). Immune-mediated diseases of the dog and cat. I. Basic concepts and the systemic immune-mediated diseases. *British Veterinary Journal*, 142(5), 395-402.

Greene, C (Ed.). (2008). Enfermedades infecciosas del perro y el gato (2008. Ed. Vols. 1) Intermédica.

Guzmán Grenfell, A. M., Maldonado Noriega, L., Mendoza Atencio, R., & Hicks Gómez, J. J. (2005). La función plaquetaria más allá de la hemostasis: participación en las enfermedades respiratorias. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 18(3), 240-246.



- Hall, J. E. (2011). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. Elsevier Health Sciences.
- Harvey, J. W., Stevens, A., Lowe, J. S., & Scott, I. (2012). *Veterinary hematology*. St. Louis: WB Saunders.
- Heller, P.G. (2017) Fisiología de la hemostasia normal HEMATOLOGÍA Volumen 21 N° Extraordinario: 7-9 I.
- Hoffman, M., & Monroe III, D. M. (2001). A cell-based model of hemostasis. *Thrombosis and haemostasis*, 85(06), 958-965.
- Izaguirre-Ávila, R., & de Micheli, A. (2005). Evolución del conocimiento sobre la sangre y su movimiento: Parte II. El saber sobre su composición. Iatroquímica de la sangre. *Revista de investigación clínica*, 57(1), 85-97.
- Kumar, V., Cotran, R. S., & Robbins, S. L. (2008). *Patología humana*. Elsevier Health Sciences.
- Lecaros-Cornejo, C., & Díaz, S. (2015). Lupus eritematoso cutáneo canino: algunas consideraciones acerca de la cercanía humana con los animales. *Revista médica de Chile*, 143(3), 405-407.
- Levine, D. N., & Brooks, M. B. (2019). Immune thrombocytopenia (ITP): Pathophysiology update and diagnostic dilemmas. *Veterinary clinical pathology*, 48, 17-28.
- Madriz, E. A. (2014). *Manual de procedimientos para transfusiones sanguíneas en caninos* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA).
- McGavin, M. D., & Zachary, J. F. (2016). *Pathologic basis of veterinary disease*. Elsevier Health Sciences.
- Monteiro, M. C., & Martínez, M. (2001). La Citometría de Flujo en el Análisis de las Plaquetas:(I) Aspectos Estructurales y Funcionales de las Plaquetas. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 50(3), 111-136.
- Moraleda Jiménez, J. M. (2017). Pregrado de hematología. *Madrid: Luzán*, 5.
- Murphy, L. A., Panek, C. M., Bianco, D., & Nakamura, R. K. (2017). Use of Yunnan Baiyao and epsilon aminocaproic acid in dogs with right atrial masses and pericardial effusion. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 27(1), 121-126.



- Mylonakis, M. E., Harrus, S., & Breitschwerdt, E. B. (2019). An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *The veterinary journal*, 246, 45-53.
- Nakamura, R. K., Tompkins, E., & Bianco, D. (2012). Therapeutic options for immune-mediated thrombocytopenia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 22(1), 59-72.
- Narayanan, P. K., Henry, S., & Li, N. (2019). Drug-induced thrombocytopenia: mechanisms and relevance in preclinical safety assessment. *Current Opinion in Toxicology*, 17, 23-30.
- Nelson, R. W., & Couto, C. G. (2010). *Medicina interna de pequeños animales* (Cuarta edición ed.). Elsevier mosby.
- Papich, M. G. (2016). *Saunders handbook of veterinary drugs-e-book: small and large animal*. Elsevier Health Sciences.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2016). *Histología: Texto y Atlas*. Ed. Médica Panamericana.
- Sink, C. A. (2017). *Practical Transfusion medicine for the small animal practitioner*. John Wiley & Sons.
- Tarragona, E. L., Flores, F. S., Herrera, C. L., Dalinger, M., Aguirre, N., Monje, L. D., & Nava, S. (2019). Primer reporte de un caso de ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Santa Fe, Argentina.
- Valenciano, A. C., & Cowell, R. L. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Valenciano, A. C., Cowell, R., Rizzi, T., & Tyler, R. D. (Eds.). (2013). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Vanegas Hurtado, C. A., & Valencia Zuluaga, K. (2019). Tipificación de grupos sanguíneos en caninos que ingresan al Centro de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad CES.
- Thompson Mark, S. (2008). Diagnóstico diferencial clínico en pequeños animales. *Editorial Elsevier*.
- Tizard, I. R. (2018). *Inmunología veterinaria*. Elsevier Health Sciences.
- Voigt, G. L. (2011). *Hematology techniques concepts for veterinary technician* 2st ed.
- Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (Eds.). (2011). *Schalm's veterinary hematology*. John Wiley & Sons.



Wolberg, A., Gomez, N., & Feijoo, S. (2017). *Síndromes clínicos en caninos y felinos: Algoritmos*.

PÁGINAS WEB CONSULTADAS.

- http://insilico.ehu.eus/camara_recuento/
- <http://www.fvet.uba.ar/archivos/bancos-clinicos/proforma-pequenos-animales.pdf>
- <http://www.hca.es/huca/web/documentos/laboratoriomedicina/BibliotecaPruebas-Hematologia.pdf>
- <http://www.ksvdl.org/laboratories/clinical-immunology/>
- <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/3925/4026>
- <https://clnicasanfrancisco.com/leishmaniosis-canina/>
- <https://www.eltiempo.com/vida/lo-que-debemos-saber-sobre-transfusiones-de-sangre-en-mascotas-360168>
- <https://www.expertoanimal.com/razas-de-perros/cavalier-king-charles-spaniel.html>
- <https://www.hogarmania.com/mascotas/perros/salud/perros-donantes-sangre-20799.html>
- <https://www.idexx.es/es/veterinary/snap-tests/snap-4dx-plus-test/>
- https://www.rapidvet.com/canine_info
- https://www.researchgate.net/figure/Figure-1-Steps-of-Blood-Smear-Preparation_fig5_311877838
- <https://www.vetfolio.com/learn/article/diagnosing-bleeding-disorders>

