

Samira Lauar de Moraes

***ESTUDO DE ALGUNS PARÂMETROS DA
COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE NO
HIPERTIREOIDISMO E HIPOTIREOIDISMO***

*Avaliação da importância da via beta adrenérgica nas
alterações dos fatores VIII e de von Willebrand em modelos
experimentais*

Orientadora: Profa. Dra. Joyce Maria Annichino Bizzacchi

Co-Orientadores: Prof. Dr. Mário José Saad

Prof. Dr. José Antônio R. Gontijo

Unicamp

Campinas, 1996

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	TIONICAMP
V.	Ex. M791e
TOMBO BC	30221
PRDC	281/97
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	16-03-97
N.º CPD	

CM-00099311-3

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

M791e

Moraes, Samira Lauar de

Estudo de alguns parâmetros da coagulação e fibrinólise no hipertireoidismo e hipotireoidismo: Avaliação da importância da via b adrenérgica nas alterações dos fatores VIII e de von Willebrand em modelos experimentais / Samira Lauar de Moraes. Campinas, SP : [s.n.], 1996.

Orientador : Joyce Maria Annicchino Bizzacchi

Tese (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hipotireoidismo. 2. Modelo experimental. 3. Coagulação. I. Joyce Maria Annicchino Bizzacchi. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Samira Lauar de Moraes

***ESTUDO DE ALGUNS PARÂMETROS DA
COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE NO
HIPERTIREOIDISMO E HIPOTIREOIDISMO***

*Avaliação da importância da via beta adrenérgica nas
alterações dos fatores VIII e de von Willebrand em modelos
experimentais*

*Tese apresentada ao curso de pós-graduação da
FCM da UNICAMP para obtenção do título de
mestre em medicina, na área de clínica médica.*

Unicamp

Campinas, 1996

Banca examinadora da tese de Mestrado

Orientador: Joyce Maria Annichino Bizzacchi

Membros:

1. Prof. Dra. Joyce Maria Annichino Bizzacchi -

2. Prof. Dra. Dayse Maria Lourenço -

3. Prof. Dr. Valson Rosival Azevedo -

Curso de pós-graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 20/12/16

Sumário

I - Introdução.....	1
II - Hemostasia Geral.....	3
1. Coagulação Sanguínea.....	3
2. Fibrinólise.....	4
3. Moduladores da Coagulação.....	5
III - Doença Tireoidiana: Hipertireoidismo - Hipotireoidismo.....	9
IV - Disfunções Tireoidianas e Alterações da Hemostasia.....	15
V - Objetivos.....	19
Fase Clínica.....	21
1. Casuística.....	23
2. Método.....	24
3. Análise Estatística.....	28
4. Resultados.....	29
5. Discussão.....	53
Fase Experimental.....	61
1. Introdução.....	62
2. Objetivos.....	64
3. Casuística.....	66
4. Métodos.....	66
5. Análise Estatística.....	72
6. Resultados.....	73
7. Níveis dos fatores VIII, de von Willebrand, T3 e T4 em cães normais.....	87
8. Conclusão.....	90
9. Discussão.....	93
Referências Bibliográficas.....	96
1. Fase Clínica.....	96
2. Fase Experimental.....	105
Anexos.....	110
Anexos de 1 a 31.....	111/142

Summary

COAGULATION AND THYROID DISEASE

Although clinically important abnormalities of hemostasis are unusual in patients with thyroid disease, coagulation and fibrinolytic systems are, nonetheless affected by hormone alterations.

Patients with hypothyroidism may present abnormal bleeding. The precise nature of the hemostatic defect was explained by a decrease in several coagulation factors, an increase in fibrinolytic activity and an abnormal platelet adhesiveness. If the hypercoagulable state contributes to increase the risk of thromboembolic complications in hypothyroid patients, the relatively increased fibrinolytic activity in such patients probably has a protective role.

Although precise statistics are not available, thromboembolic disorders do not seem to be common in patients with hyperthyroidism. These patients showed a specific elevation of the factors VIII and von Willebrand and a reduction in plasma fibrinolytic activity. Maybe, hyperdynamic circulation may counterbalance these potential hypercoagulable changes. One of the hypothesis for elevated anti-hemophilic factor activity in hyperthyroidism is based on the fact that epinephrine infusion in normal subjects is followed by elevated levels of hemostasis changes that have been reported and not yet adequately explained.

The aim of this study was to evaluate components of contact phase, coagulation, natural factor VIII activity, and hyperthyroid subjects which have an increased sensitivity to the effects of catecholamines.

An experimental model with dogs before and after hypothyroidism induction was performed in order to study the importance of the β adrenergic receptors in levels of factor VIII and von Willebrand.

During the clinic phase of this study, we analyzed 33 untreated hyperthyroid patients (mean age 39 ± 13 years old), 20 hypothyroid patients (mean age 23 ± 6 years). All patients were female. Twenty nine female euthyroid subjects (mean age 48 ± 18 years) were the control group.

The following was analyzed: activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Prothrombin Time (TP), Thrombin Time (TT), Factors V, VII, VIII, XI and XII, Fibrinogen, Protein C (PC), Protein S (PS), C1-inhibitor (C1), alpha 2-macroglobulin (alpha-2), prealbumin and von Willebrand factor, Plasmatic prekallikrein (PK), triiodothyronine (T3), tetraiodothyronine (T4) total and free, TSH and TSHus.

Only factor XII and the α 2-macroglobulin were decreased during the contact phase in hypothyroid patients. We do not believe that this decrease in factor XII levels is due to the reduction on protein synthesis. We have determined other coagulation factors; they are more sensitive to alterations in hepatic proteins synthesis, like factor VII and PK. They were not altered in hypothyroid patients. The decrease of α 2 macroglobulin in hypothyroid patients could represent a regulatory mechanism against fibrinolysis.

Both factor VIII and von Willebrand were increased in hyperthyroid patients. These factors were similar in the hypothyroid and the control group.

Final common pathway parameters and fibrinogen did not show a significant difference between the three groups.

Prealbumin was higher in hypothyroidism probably due to its thyroid hormone binding activity.

Coagulation inhibitors, analysis of protein C levels, total protein S and free protein S did not show important difference between the three groups.

The analysis euglobulin lise time and the area lise euglobulin confirmed a tendency of hypofibrinolysis in hyperthyroidism and hiperfibrinolysis in hypothyroidism.

In the experimental phase, first we tried to induce the hyperthyroidism in dogs with the use of T4 oral (10 mg/kg/day) by 14 or 30 days. This we could not do. Although the T4 levels were more than the normal, the T3 levels and factor VIII levels were not affected.

We then decided to use T3 (1mg/kg/day) for 14 days, subcutaneous, as described in other experiments in the literature. During the fifteenth and sixteenth days we administered the propranolol (3mg/kg/day) three times a day, as a β blocking agent.

We analyzed the levels of T3, factor VIII and von Willebrand in the first day (before the triiodothyronine utilization), after the triiodothyronine and after the propranolol.

In this last group of dogs, we managed to reproduce the hyperthyroidism, confirmed by clinical and laboratorial analysis.

The levels of factor VIII increased after the triiodothyronine utilization and decreased after the use of propranolol, without alterations in the triiodothyronine levels. This leads us to think of a probable direct action of the β blocker in the synthesis of factor VIII, independent of triiodothyronine.

The von Willebrand levels also increased after triiodothyronine but did not decrease after the utilization of the β blocker, like the triiodothyronine. This suggests a direct action of triiodothyronine on the von Willebrand factor.

This mechanism between the factor VIII, von Willebrand and thyroid hormones has not been well studied previously.

Dedicatória

Aos meus filhos, Gabriel e André que muito foram privados da minha companhia durante a realização deste trabalho e sempre continuaram ao meu lado com seus olhares carinhosos e amigos. São eles a razão dos meus dias.

Aos meus pais, Anuar e Nefália, à minha Avó Efigênia e meus irmãos Silmara e Anuar que sempre acreditaram e se orgulharam de mim e de quem eu tanto me orgulho. Ao André.

*Essa tese foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo -
FAPESP - (Bolsa de Mestrado, Processo n.º 92/8767-2).*

Agradecimentos

Este trabalho, é o fruto do empenho e da dedicação de um grande número de pessoas, com as quais, eu tive o privilégio de trabalhar.

Nominar indivíduos nesta hora é muito difícil mas não seria justo de não tornar pública a minha gratidão e o reconhecimento àquelas pessoas que tornaram este estudo possível.

Esta lista, certamente ficará incompleta mas eu a utilizo como veículo para apresentar a minha sincera gratidão às pessoas nominadas abaixo e àqueles anônimos contribuintes para o sucesso deste trabalho:

- * *À Joyce, pela confiança desde o primeiro momento, pelos ensinamentos e pela amizade construída neste período de convívio.*
- * *Ao Valder, pelo seu amor à pesquisa, pelo incentivo à realização deste e pela consideração que sempre me dispensou, um grande amigo.*
- * *Aos doutores **Mário Saad, José Gontijo e Gilberto**, pela competência, amizade e “jeito mineiramente calmo” de nos incentivar nos momentos de insucesso num estudo experimental.*
- * *Aos docentes da Disciplina de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas, **Irene, Sarita e Cármino** pelo apoio e colaboração dados à minha pessoa e a esse trabalho.*
- * *Aos médicos da Disciplina de Hematologia, **Aranha, Kátia e Cecília** pela amizade e paciência nos momentos em que tive que me ausentar.*
- * *Aos amigos **Vagner, Malu, Angela, Marcelo** que trabalham conosco na Divisão de Hemoterapia, pessoas com que podemos contar sempre.*

- * *Aos médicos residentes da Disciplina de Hematologia do Departamento de Clínica Médica, **Jordana, Gislaine, Margareth e Isolmar** pela força que sempre me deram.*
- * *As biólogas do Laboratório de Hemostasia do HEMOCENTRO, **Cristina, Vânia, Tânia e Andréa**, símbolos de que a dedicação e a competência superam as divergências do dia a dia e dão bons frutos.*
- * *À **Malu**, à **Sandrinha** e à **Rosana** pelo carinho apoio e paciência que sempre nos proporcionam e nos ajudam manter o padrão estético e didático dos nossos trabalhos.*
- * *À **Cristina** e à **Arlete**, secretárias da Divisão de Hematologia, que com gentileza e amizade lutam conosco no dia a dia.*
- * *À todos os funcionários administrativos e de apoio do HEMOCENTRO pelo carinho dispensado, **Alessandra, Eliseu, Santin, Lindomar, Rosana, Maria Luíza, "Ismê"**.*
- * *Aos funcionários do Núcleo Experimental da UNICAMP, **Ana, William, Paulo, Roberto, Valdemir, Miguel e Sônia** exemplo de que o esforço conjunto e o prazer no que se faz , torna tudo possível e ultrapassa todas as dificuldades. Sem eles esse estudo não se concretizaria.*
- * *Aos funcionários do laboratório de farmacologia da UNICAMP, **Marcos e Laurione**, pelo apoio e contribuição dados a esse trabalho.*
- * *A **Fátima** e **Maria** pelo carinho dedicado aos meus filhos e à minha casa na minha ausência.*
- * *À **Elizandra** uma amiga secretária.*

Introdução

A hemostasia sanguínea é um mecanismo fisiológico para a manutenção da fluidez do sangue no sistema vascular e envolve a participação de estruturas endoteliais, células sanguíneas e proteínas. A coagulação sanguínea é o resultado da conversão sequencial de pró-enzimas e pró-cofatores plasmáticos em suas formas ativas resultando na formação de trombina que atua sobre o fibrinogênio levando a formação de polímeros de fibrina. Os inibidores de serino proteases como a antitrombina III, proteína C, protreína S e o inibidor da via extrínseca, exercem importante função no controle da hemostasia. A produção dos componentes proteicos e enzimáticos envolvidos na hemostasia, assim como sua ativação e inibição efetivas podem sofrer alterações secundárias a situações patológicas adquiridas ou hereditárias.

Os efeitos dos hormônios tireoidianos sobre a síntese de proteínas e atividade enzimática são reconhecidos em vários tecidos do organismo como o sistema nervoso central, cardiovascular, trato gastro-intestinal e no metabolismo lipídico. De maneira semelhante, nos casos de disfunção tireoidianas os estudos dos componentes da hemostasia revelaram distintos efeitos na dependência do excesso ou redução da produção dos hormônios tireoidianos, caracterizados como hiper e hipotireoidismo, respectivamente. De fato, fenômenos trombóticos e hemorrágicos são reconhecidos clinicamente entre os pacientes com disfunção tireoidianas, como por exemplo a doença de von Willebrand adquirida no hipotireoidismo.

No entanto, a maioria desses estudos foi realizada com reduzido número de pacientes e com análise relativamente restrita de fatores pró-coagulantes e inibidores. Assim o estudo de alterações da hemostasia secundárias as disfunções tireoidianas e a melhor caracterização da ação dos hormônios tireoidianos na síntese e atividade funcional de proteínas e enzimas podem oferecer dados adicionais na fisiopatogenia das alterações da coagulação e possibilita também a investigação de distintas abordagens terapêuticas.

II. Hemostasia Geral:

A hemostasia é um conjunto de reações interligadas, responsáveis pela ativação e inibição da coagulação, para que se mantenha a circulação sanguínea (Iwanaga e Cols, 1993). É composta fundamentalmente por três sistemas: as plaquetas, o endotélio vascular e os fatores de coagulação e fibrinólise, e seus moduladores (inibidores e estimuladores). Na sequência dessas reações, podemos identificar cinco fases consecutivas e interligadas: 1) Vasoconstrição local: secundária a contração da musculatura lisa local; 2) Adesão Plaquetária: as plaquetas se aderem ao local da lesão, auxiliadas pelo fator de von Willebrand (Meyer e Cols, 1993) e 3) Agregação plaquetária: as plaquetas circulantes se agregam às plaquetas aderidas ao endotélio, formando o coágulo instável. Estas três primeiras fases compõem a chamada Hemostasia Primária. 4) Consolidação: constitui a resposta secundária da coagulação, e se faz através da ativação dos fatores de coagulação, que se fixam às plaquetas aderidas e agregadas à lesão, formando o coágulo de fibrina ou coágulo estável; 5) Fibrinólise: responsável pela dissolução do coágulo de fibrina, através da plasmina. Estas duas últimas fases ocorrem pela interação sequencial de proteínas e enzimas plasmáticas, que ora favorecem a coagulação, ora a inibem, modulando-a e limitando-a apenas ao local desejado, impedindo que se estenda a todo o organismo.

1. Coagulação Sanguínea

A coagulação sanguínea pode ser ativada por duas vias: a via intrínseca (ou fase de contato) e a via extrínseca da coagulação. A via intrínseca é iniciada pela ativação do fator XII (fator de Hageman), quando este é exposto a superfícies negativas, como o colágeno, membrana bacteriana,

imunocomplexos, endotoxinas, e outros. O fator XII ativado vai atuar sobre o fator XI, transformando-o em fator XI ativado. O fator XII ativado também ativa a precalicreína plasmática a calicreína, que atua sobre o cininogênio de alto peso molecular, levando à liberação de bradicinina. Por outro lado, a calicreína atua sobre o fator XII, ativando-o. As reações envolvidas na fase de contato são moduladas pela presença de inibidores plasmáticos, representados pelo C1-inativador e pela alfa 2-macroglobulina.

O fator XI ativado, ativa o fator IX, que juntamente com o fator VIII, cálcio e fator plaquetário 3, ativam o fator X. Este último, junto ao fator V ativado, fator plaquetário 3 e cálcio, converte a protrombina em trombina. A trombina tem um papel fundamental na formação do coágulo de fibrina, pela transformação do fibrinogênio em fibrina (Henschen e Cols, 1993). Além disso, participa da agregação plaquetária, e da ativação do fator XIII e da proteína C.

A via extrínseca inicia-se pela ativação do fator VII, na presença do fator tissular e do cálcio. O fator VII ativado, atua diretamente sobre o fator X, dando continuidade à cascata da coagulação (Bloom e Cols, 1990), de modo semelhante a quando é iniciada pela ativação da via intrínseca.

2. Fibrinólise

A fibrinólise é a responsável pela dissolução do coágulo de fibrina, através da transformação do plasminogênio plasmático (uma proenzima), em plasmina (uma serino-protease). O plasminogênio é sintetizado pelo fígado e apresenta sítios de ligação de lisina que são importantes na interação do plasminogênio com a fibrina e a alfa 2-antiplasmina. A maior parte da plasmina formada

permanece ligada à fibrina. Algumas moléculas de plasmina liberadas da fibrina são rapidamente inibidas pela alfa 2-antiplasmina, restringindo a fibrinólise ao local da lesão (Bloom e Cols, 1990).

Assim sendo, a fibrinólise pode ser considerada um mecanismo essencial de defesa do organismo, contra a oclusão vascular pelo coágulo de fibrina formado.

A ativação do plasminogênio pode ocorrer pela via endógena, através do ativador tissular do plasminogênio (t-PA) liberado pelo endotélio, do fator XII e da calicreína ; ou pela via exógena, por substâncias com finalidades terapêuticas, como a estreptoquinase, a uroquinase e o ativador tissular do plasminogênio recombinante (Bloom e Cols, 1990).

Os inibidores da fibrinólise são o inibidor do ativador tissular do plasminogênio (PAI), que inibe o t-PA; a alfa 2-antiplasmina e a alfa 2-macroglobulina, que atuam sobre a plasmina formada; e o C1-inativador, que inibe a calicreína plasmática (Saito H,1991; Bloom e Cols, 1990; Hessel e Cols, 1986; Travis e Cols, 1983).

3. *Moduladores da Coagulação*

Uma variedade de inibidores naturais, através de sua ação anticoagulante, exercem um papel de controle da coagulação. Esses inibidores incluem:

Anti trombina III (ATIII): inibe a trombina formando um complexo estável com a mesma. É o inibidor mais importante da trombina, mas também inibe os fatores XII, XI, X, IX, calicreína plasmática e a plasmina. Sua ação é potencializada pela heparina. A deficiência de antitrombina III pode predispor a trombose.

Cofator II da Heparina (HCII): é uma proteína plasmática com estrutura homóloga a ATIII, com atividade inibitória específica sobre a trombina. Sua ação é potencializada pela heparina e pelo “dermatan sulphate”. É discutível se sua deficiência pode causar fenômenos trombóticos (Bloom e Cols, 1990).

Alfa 2-Macroglobulina: é uma proteína plasmática que inibe a trombina, com a qual forma um complexo irreversível. Esta ligação é responsável por ¼ da inativação da trombina no plasma. A alfa 2-macroglobulina também inibe a tripsina, a plasmina e a calicreína plasmática. Pode-se verificar diminuição adquirida de alfa 2-macroglobulina na coagulação intravascular disseminada, hepatopatias graves e hiperfibrinólise. Seus níveis encontram-se elevados na infância, na síndrome nefrótica, na gravidez, com o uso de contraceptivos orais e em neoplasias do trato gastrointestinal (Comp e Cols, 1990; Hoogendoorn e Cols, 1991; Roeise e Cols, 1990).

C1-Inativador: é uma proteína plasmática presente nos grânulos alfa das plaquetas e sua liberação ocorre por exposição ao colágeno ou à trombina. É o principal inibidor da calicreína e do fator XII ativado. Inibe também o fator XI ativado e a plasmina. O C1-inativador e a alfa 2-macroglobulina são os maiores inibidores da fase de contato da coagulação (Nuijens e Cols, 1987; Comp e Cols, 1990).

Alfa 1-antitripsina: é o principal inibidor plasmático do fator XI ativado. Parece inibir fracamente a trombina e a calicreína plasmática. Discute-se uma ação inibitória da alfa 1-antitripsina sobre a Proteína C (Comp e Cols, 1990).

Alfa 2-antiplasmina: é o mais rápido inibidor da plasmina livre, formando um complexo 1:1 com a mesma. Interfere na ligação do plasminogênio com a fibrina. O fator XIII ativado pode

associar a alfa 2-antiplasmina à fibrina, protegendo o coágulo da lise pela plasmina (Francis e Cols, 1984).

Inibidor do ativador tissular do plasminogênio (PAI): é produzido por várias células como endotélio, hepatócitos e fibroblastos. Tem baixa concentração plasmática e é estocado nos grânulos plaquetários. Seu principal papel é a inibição do t-PA, através da formação de um complexo (Juhan-Vague e Cols, 1983; Hinsbergh e Cols, 1988; Loskutoffe e Cols, 1993).

Inibidor da Proteína C: é uma proteína plasmática que inibe a Proteína C ativada, formando um complexo com esta enzima. A heparina acelera 30 vezes essa inativação.

Inibidor da Via Extrínseca (EPI): também chamado inibidor da coagulação associado à lipoproteína (LACI), é uma proteína plasmática que inativa o complexo fator VII ativado e fator tecidual. É sintetizado pelas células do endotélio vascular e hepatócitos.

Proteína C: é o precursor (zimogênio) de uma serino-protease existente no plasma, vitamina K dependente, cuja a estrutura é similar aos fatores II, VII, IX e X. Atua como agente anticoagulante ao clivar os fatores V e VIII ativados. Tem também uma atividade profibrinolítica ao inibir o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) (Walker e Cols, 1992). É ativada pela trombina, na presença da trombomodulina e cálcio (Hoogendoorn e Cols, 1991). A trombomodulina é uma glicoproteína de membrana encontrada nas células endoteliais, trofoblastos, músculo liso e megacariócitos. É inibida pela alfa 1-antitripsina e alfa 2-macroglobulina. Está diminuída em deficiências congênitas (Griffin e Cols, 1981), em casos de cirrose hepática, hepatite crônica ativa, coagulação intravascular disseminada, cirurgias e neoplasias do trato gastrointestinal (Mannuci e Cols, 1982) e aumentada na síndrome nefrótica

(Vingano D'Angelo e Cols, 1984; Corsio e Cols, 1985) e em neoplasias da próstata (Oliveira e Cols, 1991).

Proteína S: é também uma proteína dependente da vitamina K, sintetizada nos hepatócitos, células endoteliais, megacariócitos e células testiculares de Leydig. Apresenta-se sob duas formas: a proteína S livre (40%) e a ligada ao C4b (60%). Apenas a proteína S livre atua como cofator da proteína C ativada. A proteína C ativada, forma um complexo com a proteína S na superfície das plaquetas e do endotélio. Este complexo lisa os fatores V e VIII ativados. A proteína S total está diminuída na gravidez e nas deficiências congênitas e está aumentada com a porção livre diminuída na proteinúria ((Vingano D'Angelo e Cols, 1984; Corsio e Cols, 1985) e em neoplasias da próstata (Oliveira e Cols, 1991).

III. Doença Tireoidiana: Hipertireoidismo e Hipotireoidismo

A tireóide é uma glândula, localizada em frente à traquéia e composta por dois lobos e um istmo. Cada lobo é formado por 30 a 40 folículos esféricos (repletos de coloide), pelas células esféricas e pelas células parafoliculares, que produzem a calcitonina. O coloide é constituído por tireoglobulina, Tiroxina (T4), Triiodotironina (T3) e pelos precursores monoiodotironina (MIT) e diiodotironina (DIT).

Função da Tireóide

A função da tireóide é produzir os hormônios tireoidianos. O substrato para a síntese de tais hormônios é o iodeto que é oxidado a iodo, se liga a tirosil da tireoglobulina formando o MIT e o DIT. Estes se acoplam, formando o T3 e o T4. As células foliculares captam gotas de colóide formando vacúolos no seu interior, que se fundem aos lisossomos e a enzimas proteolíticas, sofrendo hidrólise e liberando a tireoglobulina, o T3 e o T4, para o meio externo.

A tireóide é a única fonte de T4, mas contribui somente com 20% do T3 produzido por dia. Cerca de 80% da produção diária de T3 vem da desiodação do T4 extratireoidea, o que é considerado um processo de ativação, já que o T3 é o hormônio ativo. O T4 pode sofrer desiodação para T3 reverso (T3r), que é inativo.

Os hormônios tireoidianos circulam sob duas formas: livre e ligada a proteínas. Seu principal transportador é a globulina de ligação da tiroxina (TBG) que liga 70% dos hormônios. Outros carreadores menos importantes são a prealbumina de ligação da tiroxina (TBPA) e a albumina.

Apenas uma pequena quantidade de T3 (0.3%) e T4 (0.03%) permanece livre e em equilíbrio com a fração ligada às proteínas. O estado metabólico do paciente correlaciona-se com o hormônio livre. É comum haver alteração nos níveis de TBG, com consequente alteração no T4 total, com a fração livre do hormônio inalterada.

A concentração de TBG está aumentada nos recém-nascidos, na gestação (efeito do estrogênio), na hepatite aguda, com o uso de anticoncepcional oral e em casos de excesso genético de TBG. Está diminuída nos casos de cirrose hepática, com o uso de glicocorticóides e andrógenos, na síndrome nefrótica, na doença de Graves e na deficiência genética.

A regulação da síntese dos hormônios tireoidianos é executado pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireóide. A tireotropina hipotalâmica (TRH) estimula a produção de hormônio estimulador da tireóide (TSH), sintetizado pela hipófise, e que por sua vez estimula a produção de T4 e T3. Estes últimos (T3 e T4) inibem a produção dos anteriores (TSH e TRH), por mecanismos de "feedback".

Efeitos do Hormônio Tireoidiano

Os efeitos dos hormônios tireoidianos são amplos e podem ser resumidos no estímulo da síntese proteica e o crescimento do organismo. Atuam no desenvolvimento do sistema nervoso central, na produção de calor, aumenta o catabolismo proteico e lipídico e estimulam os receptores β -adrenérgicos e as catecolaminas.

Avaliação da Função Tireoidiana

A função tireoidiana pode ser avaliada pela determinação da concentração sérica dos hormônios tireoidianos como o T4 total, T4 livre, T3, TSH e TSH ultra sensível. Detecção de anticorpos (Ac) antitireoglobulina e antimicrosomal. Associadas à cintilografia glandular, ultrassonografia e estudo anátomo-patológico de material obtidos por biópsia por agulha

Disfunções Tireoidianas

Hipertireoidismo

É uma síndrome decorrente do excesso de hormônio tireoidiano, também chamada de tireotoxicose. Uma vez que os hormônios tireoidianos exercem efeitos sobre vários sistemas do organismo, os sinais e sintomas no caso de hiperfunção são muitos: nervosismo, intolerância ao calor, sudorese, palpitações, tremor, insônia, perda de peso, fraqueza muscular, ansiedade, irritabilidade, agitação, falta de concentração, hiperdefecação, pele quente e lisa, reflexos vivos, taquicardia e mixedema pré-tibial. (Mckenzie e Cols, 1989). Os fenômenos hemorrágicos e trombóticos são pouco frequentes nesses pacientes, apesar das constantes alterações encontradas na hemostasia e fibrinólise.

As causas de tireotoxicose mais frequentes são: Doença de Graves que é uma doença auto-imune, decorrente da presença de anticorpos dirigidos contra os receptores de TSH da glândula tireóide; o Adenoma tóxico, doença ocasionada pela produção aumentada de hormônios tireoidianos, a partir de áreas autônomas, independentes do estímulo pelo TSH; e as Tireoidites: a tireoidite aguda de etiologia bacteriana ; a tireoidite subaguda de etiologia provavelmente viral, também chamada de tireoidite granulomatosa ou de células gigantes e a tireoidite linfocítica subaguda cuja etiologia é provavelmente auto-imune.

Hipotireoidismo

É um quadro clínico e laboratorial secundário à deficiência de hormônio tireoidiano, devido a um defeito primário da tireóide ou raramente, à existência de doença hipofisária ou hipotalâmica (hipotireoidismo secundário). As manifestações clínicas do hipotireoidismo são fraqueza, fadiga, intolerância ao frio, aumento de peso, anorexia, obstipação, perda dos cabelos, rouquidão, mialgia, artralgia e irregularidade menstrual. Ao exame físico pode-se verificar pele seca, grossa e fria, edema periorbitário e periférico, cabelos finos e ásperos, língua espessa, fala lenta e reflexos diminuídos. (Utiger RD, 1989). Fenômenos hemorrágicos como metrorragia, gengivorragia, sangramentos após extração dentária ou cirurgias, já foram descritos anteriormente nos pacientes com hipotireoidismo (Egberd e Cols, 1963; Dalton e Cols, 1987; Takahashi e Cols, 1987; Blesing e Cols, 1990). Por outro lado, como já foi mencionado anteriormente, talvez exista um balanço entre as alterações da coagulação e fibrinólise, os níveis de hormônios tireoidianos e o estado hemodinâmico destes pacientes. Os pacientes com hipotireoidismo, apesar de apresentarem hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e obesidade, têm uma diminuição de vários fatores da coagulação e um aumento de fibrinólise.

Hume e cols (1965), sugeriu que o aumento da atividade fibrinolítica atuasse como um mecanismo protetor contra os riscos de fenômenos vasculares obstrutivos. a despeito destes pacientes terem alterações ateroscleróticas, especialmente coronária, renal e cerebral, a incidência de angina e infarto do miocárdio no hipotireoidismo não tratado é baixa. Além disso, o que se verificou é que o tratamento com hormônio tireoidiano precipitou o infarto do miocárdio em muitos pacientes.

As causas do Hipotireoidismo podem ser subdivididas em primárias: Auto imunes (tireoidite de Hashimoto, mixedema idiopático), Iatrogênicas (terapia com Iodo radioativo, pós tireoidectomia

subtotal), Induzido por drogas (iodeto, lítio, amiodarona, drogas antitireoidianas) ou Congênitas; e secundárias à disfunção hipotalâmica (por irradiação terapêutica,doença granulomatosa, neoplasias) ou à disfunção hipofisária (por irradiação terapêutica,cirurgia de hipófise, hipopituitarismo idiopático, neoplasias, neurose hipofisária pós parto).

Tireoidite de Hashimoto

É a causa mais frequente de hipotireoidismo no adulto e adolescente. É uma doença auto-imune caracterizada pela presença de auto-anticorpos contra estruturas tireoidianas. Os anticorpos mais facilmente detectáveis são os antireoglobulina e antimicrosomal.

IV. Disfunções Tireoidianas e Alterações da Hemostasia

A interrelação entre as disfunções tireoidianas e a hemostasia podem ser reconhecidas clinicamente e laboratorialmente. Rennie e Cols 1978 descreveram que relatos a respeito de fenômenos hemorrágicos e trombóticos eram raros. Por outro lado, alguns autores relataram fenômenos hemorrágicos como metrorragia, gengivorragia, sangramento após extração dentária ou após traumas nos pacientes com hipotireoidismo (Egberd e Cols, 1963; Dalton e Cols, 1987; Takahashi e Cols, 1987; Blesing e Cols, 1990). No entanto, as alterações da coagulação responsáveis por esses quadros clínicos não estão totalmente esclarecidas. Acredita-se que estão implicados nessas alterações, uma diminuição dos fatores de coagulação, um aumento da atividade fibrinolítica e uma diminuição na adesividade e agregação plaquetária (Edson e Cols, 1975).

Simone e Cols (1965), avaliaram 07 pacientes com hipotireoidismo e descreveram um aumento do tempo de tromboplastina parcial ativado em 05 pacientes; o fator VIII estava diminuído em 05 pacientes, o fator IX em 06 pacientes e o fator XI em 02 pacientes. Após a reposição do hormônio tireoidiano, em 04 pacientes com cretinismo, os níveis de fator VIII aumentaram progressivamente.

Rennie e Cols (1978), também verificaram que pacientes com hipotireoidismo apresentavam um aumento do tempo de tromboplastina parcial ativado, com diminuição significativa do fator XII. Esses autores justificaram a diminuição desses fatores como secundária a uma diminuição global da síntese proteica.

Os diversos estudos que avaliaram os níveis de fator VIII coagulante no hipotireoidismo, verificaram como achado comum a sua diminuição (Simone e Cols, 1965; Farid e Cols, 1976;

Rennie e Cols, 1978; Rogers e Cols, 1982). Após o tratamento com hormônio tireoidiano, os níveis de fator VIII aumentaram progressivamente, mostrando haver uma correlação entre eles. Os níveis de fibrinogênio no hipotireoidismo, nos diversos estudos realizados, mostraram uma grande variabilidade, podendo estar normal ou aumentado em relação aos indivíduos normais (Simone e Cols, 1965; Bennet e Cols, 1967; Rennie e Cols, 1978).

O fato dos pacientes com hipotireoidismo terem um aumento dos níveis de colesterol e triglicérides, associado a lesões do endotélio vascular, e não apresentarem fenômenos vasclusivos frequentemente, despertou a atenção para o estudo da fibrinólise nesses pacientes.

Hume e cols (1965), foram um dos primeiros a descrever um aumento da atividade fibrinolítica no hipotireoidismo, que foi confirmado por outros estudos. Então sugeriu-se que este aumento atuasse como um mecanismo protetor contra os riscos de fenômenos vasculares obstrutivos. Apesar destes pacientes terem alterações ateroscleróticas, especialmente coronária, renal e cerebral, a incidência de angina e infarto do miocárdio no hipotireoidismo não tratado é baixa. Além disso, o que se verificou é que o tratamento com hormônio tireoidiano precipitou o infarto do miocárdio em muitos pacientes.

Talvez exista um balanço entre as alterações da coagulação e fibrinólise, os níveis de hormônios tireoidianos e o estado hemodinâmico dos pacientes. Os pacientes com hipotireoidismo, apesar de apresentarem hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e obesidade, têm uma diminuição de vários fatores da coagulação e um aumento de fibrinólise.

No hipertireoidismo, apesar das alterações da hemostasia tenderem a uma hipercoagulabilidade, uma vez que há aumento do fator VIII e do fator de von Willebrand, e diminuição da fibrinólise, a incidência de trombose não está aumentada. Isso talvez possa ser explicado pelo estado hiperdinâmico verificado no hipertireoidismo. As alterações da coagulação

nestes pacientes, caracterizam-se por um encurtamento do tempo de tromboplastina parcial ativado e um aumento dos níveis de fator VIII coagulante, do fator de von Willebrand antigênico e funcional, avaliado pela atividade cofatora da ristocetina (Simone e Cols, 1965; Rennie e Cols, 1978; Rogers e Cols, 1982; Farid e Cols, 1976).

Os possíveis mecanismos envolvidos na elevação específica do fator VIII no hipertireoidismo, são: um efeito β -adrenérgico; um efeito regulador da tironina (TRH) sobre a vasopressina que atuaria como um mediador no sistema nervoso central induzindo a liberação e/ou o aumento do fator VIII (Cort e Cols, 1981); ou um efeito direto do hormônio tireoidiano ou do sistema neuroendócrino sobre a síntese, liberação e metabolismo do fator VIII (Rogers e Cols, 1982).

Ao contrário do hipotireoidismo, no hipertireoidismo é descrito uma diminuição da fibrinólise (Bennet e Cols, 1967; Hume e Cols, 1965).

Rennie e Cols (1978), estudando alguns parâmetros da fibrinólise em 20 pacientes hipertireoidianos, encontrou uma diminuição significativa da atividade fibrinolítica e dos níveis de plasminogênio, sem alterações nos níveis de fibrinogênio, em relação a pacientes com hipotireoidismo e controles normais.

Marongiu e Cols (1988), estudando 14 pacientes hipertireoidianos, sem tratamento prévio, encontrou um aumento dos níveis de fibrinogênio e do fragmento B β_{15-42} . Destes pacientes, quatro foram reestudados após o tratamento e restauração do eutireoidismo, e apresentaram uma diminuição dos níveis tanto do fibrinogênio quanto do B β_{15-42} , sugerindo uma ação do hormônio tireoidiano.

Os anticoagulantes naturais têm um importante papel na prevenção de doenças tromboembólicas. Contudo, até o momento, não encontramos relatos sobre a dosagem de Proteína C e Proteína S em doenças tireoidianas. Apenas um estudo verificou que pacientes com hipotireoidismo apresentavam diminuição de Antitrombina III (Rennie e Cols, 1978).

Diante do exposto anteriormente, foi objetivo deste estudo a análise dos componentes da hemostasia: fatores da coagulação, principais anticoagulantes naturais e fibrinólise, em pacientes com doença tireoidiana. Também foi objetivo deste estudo, a padronização de modelos animais com disfunção tireoidiana, para avaliação da via β adrenérgica na regulação dos fatores VIII e de von Willebrand.

Objetivos

Após a avaliação dos dados da literatura, notamos haver poucos trabalhos a respeito da relação entre a hemostasia e as disfunções tireoidianas, com casuísticas pequenas, ou com análises parciais da coagulação. Além disso, os mecanismos responsáveis pelas alterações dos fatores VIII e de von Willebrand nestas disfunções permanecem apenas hipotéticos. Assim sendo, este estudo tem por objetivo:

- 1- Avaliar alguns parâmetros da coagulação; níveis dos anticoagulantes naturais e alguns dos componentes da fibrinólise em pacientes com disfunção tireoidiana.
- 2- Padronizar a indução do hipertireoidismo em um modelo experimental
- 3- Padronizar a dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand no modelo experimental em estudo
- 4- Avaliar os níveis séricos dos fatores VIII e de von Willebrand no modelo experimental e correlacioná-los com a concentração plasmática dos hormônios tireoidianos
- 5- Avaliar a importância dos receptores β adrenérgicos sobre os níveis séricos dos fatores VIII e de von Willebrand e dos hormônios tireoidianos, após a indução do hipertireoidismo

Fase Clínica

Casuística e Métodos

1. Casuística

Foram estudados 82 indivíduos, subdivididos em três grupos: grupo A - 33 pacientes hipertireoideos; grupo B - 20 pacientes hipotireoideos; grupo C - 29 controles normais. Os pacientes hipertireoideos e hipotireoideos foram recrutados do ambulatório de triagem da Disciplina de Endocrinologia do HC/Unicamp. Foram excluídos todos os pacientes que já estivessem sob tratamento ou usando algum medicamento. O grupo controle foi constituído por 29 indivíduos hígidos, sem uso de nenhuma medicação, inclusive anticoncepcionais, funcionários dos laboratórios do Hemocentro da Unicamp.

A identificação foi feita quanto a idade, o peso, a altura e o sexo. Todos os pacientes eram do sexo feminino. A idade dos pacientes variou de 21 a 89 anos, sendo a média de idade dos grupos de: 39.7 ± 13.5 no hipertireoidismo, 29.9 ± 6.2 no hipotireoidismo e 48 ± 18.3 no grupo controle.

O diagnóstico de hipertireoidismo ou hipotireoidismo foi estabelecido pela avaliação clínica e dosagem de T3, T4 e TSH ou T₄ livre e TSHus. O diagnóstico etiológico da doença tireoideana foi realizado pelos resultados dos exames laboratoriais (presença de anticorpos) e da cintilografia.

As características antropométricas e laboratoriais estão representadas nos anexos de 1 a 5.

Coleta das amostras de sangue

A coleta de sangue foi realizada no período da manhã, após repouso. O sangue foi obtido por punção de veia periférica, com material plástico, na proporção de 4,5 ml de sangue para 0,5 ml de citrato de sódio 3,8 %. Após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm e o plasma pobre em plaquetas separado em aliquotas e conservado a - 80 °C, até sua utilização.

2. Métodos

O **Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA)** foi realizado em plasma citratado, ativado pela adição de caolin e cefalina. Os resultados foram expressos pela relação entre o tempo obtido com o plasma do paciente e o tempo obtido com um pool de plasmas normais (Proctor e Cols, 1961).

O **Tempo de Protrombina (TP)** foi realizado em plasma, citratado com tromboplastina proveniente de cérebro de coelho, segundo o método de um estágio. O resultado foi expresso pela relação normatizada internacional (RNI) e obtido através da relação entre o tempo de coagulação do plasma do paciente e um pool de plasmas normais, corrigido de acordo com o índice de sensibilidade internacional (ISI) da tromboplastina utilizada (Quick e Cols, 1935).

O **Tempo de trombina (TT)** foi realizado com plasma citratado e trombina humana, numa diluição que fornecia um tempo de coagulação entre 12 a 18 segundos, para o pool de plasma de indivíduos normais. Os resultados foram expressos em segundos. (Biggs e Cols, 1975).

A atividade coagulante do **Fator V e do fator VII** foi medida pela capacidade do plasma em estudo, corrigir o TP de plasmas artificialmente deficientes nos fator V e VII. Os resultados foram expressos em porcentagem (Duquert e Cols, 1954).

A atividade dos **Fatores VIII, XI e XII** foi avaliada através da capacidade do plasma de corrigir o TTPA de plasmas artificialmente deficientes nos respectivos fatores, e os resultados expressos em porcentagem (Ratnoff, 1951).

A dosagem do **Fator de von Willenbrand (vWF)** foi realizada por imunoeletroforese em rocket, e os resultados expressos em porcentagem, em relação a um pool de plasmas normais (Laurell, 1966).

O **Fibrinogênio Plasmático** foi medido pelo conteúdo de tirosina da fibrina formada após a adição de trombina ao plasma citratado, dosado pelo reagente de Folim-Ciocalteau. Os resultados foram expressos em mg/dl (Ratnoff, 1951).

Os inibidores da coagulação, **Proteína C, Proteína S, C1-inativador e Alfa 2-magroglobulina** foram dosados pela técnica de imunoeletroforese em rocket. Os resultados foram expressos em porcentagem (Laurell, 1966).

A **Proteína S Livre** também foi determinada por imunoeletroforese, após precipitação com polietilenoglicol, e os resultados expressos em porcentagem (Laurell, 1966).

A **Precalicroína Plasmática** foi determinada pela hidrólise do substrato cromogênico APANA, após a ativação da precalicroína em calicroína, pela mistura de 50 µl de plasma com 50 µl de uma solução de sulfato de dextrana em acetona a 70%, a 0°C, por exatamente 15 minutos. A interrupção da ativação foi realizada pela adição de 400µl de tampão Tris 0.05 M, pH 8.0. A

atividade amidásica da calicreína plasmática sobre o substrato cromogênico APANA foi medida em espectrofotômetro Beckman à 405 nm, à 37 °C, em solução com tampão Tris 0.1M, pH 8.0. A variação da absorvância foi seguida em registrador e a atividade enzimática calculada a partir das curvas obtidas. Define-se como unidade de precalicreína plasmática a quantidade de enzima que hidrolisa 1µmol do substrato por minuto, nas condições descritas. Os resultados foram expressos em U/ml (Juliano e Cols, 1985).

A **Pré-albumina** foi dosada pela técnica de imunoeletroforese em rocket. Os resultados foram expressos em porcentagem (Laurell, 1966).

Para realização do **Tempo de Lise de Euglobulina** utilizou-se técnica padronizada pelo ECAT. Misturou-se 200µl de plasma com 1.8µl de água destilada a 4°C. Para precipitação da fração euglobulina adicionou-se 150 µl de ácido acético à 0.25%, pH 5.9, mantendo-se a solução por 30 minutos à 4°C. O precipitado foi separado por centrifugação a 3000rpm por 10 minutos, à 4°C, desprezando-se o sobrenadante por inversão. Para ressuspensão, acrescentou-se 200µl de tampão Tris-Tween, pH 7.5. Esta mistura foi então coagulada com uma solução de trombina e cloreto de cálcio. Com a temperatura do tubo mantida à 37 °C, observou-se o tempo para a dissolução total do coágulo. Os resultados foram expressos em horas e minutos.

A **área de lise em placa de fibrina** foi realizada pelo método descrito por Astrup (1956), modificando-se a diluição do fibrinogênio em PBS 1:20, conforme técnica desenvolvida no Departamento de Bioquímica da Escola Paulista de Medicina. A placa de fibrina foi preparada com fibrinogênio humano, utilizando-se uma solução de 0.1% de proteína coagulável. A fração euglobulina foi preparada como para o tempo de lise. O precipitado foi ressuspenso em tampão barbital gelatina EDTA, ao volume original de plasma, e foram alicadas 3 aliquotas de 30µl em

pontos equidistantes, sobre a placa de fibrina. Utilizou-se uma placa de fibrina para cada indivíduo. Os resultados foram expressos mm², realizando-se a leitura dos diâmetros perpendiculares das áreas de lise após este tempo.

A dosagem de **T3**, foi realizada através de técnica de radioimunoensaio (RIE) por ensaios competitivos, utilizando o kit da Baxter (Clinical Assay - Gammacoat M (125I) T3 Radioimunoassay Kit). Foram considerados normais valores entre 60 e 200 ng/dL.

A dosagem do **T4** também foi realizada através de técnica de radioimunoensaio (RIE) por ensaios competitivos, utilizando-se o Kit RIE Gammacoat M (125I) Total T4 da Baxter. Os resultados normais estão entre 4.5 a 11.5 µg/mL

A dosagem do **T4 Livre** foi determinado pelo teste de fluorimetria imunoenzimático, utilizando o "Fluorometric Enzyme Immunoassay- Stratus II System" da Baxter. Os valores normais variaram entre 0.74 e 2.1 ng /dL, de acordo com a especificação do kit.

O **TSH** foi dosado pela técnica de RIE de segunda geração, utilizando-se o kit Gammacoat da Baxter e os resultados foram expressos em µUI/ml. Os resultados normais variaram de 0.4 a 3.1 µUI/ml.

A dosagem de **TSH Ultrasensível** foi realizada pela técnica de fluorimetria imunoenzimática de terceira geração, que utiliza três anticorpos monoclonais, com o Kit Stratus II System da Baxter. Um anticorpo monoclonal vem fixado no tubo de vidro e dois outros anticorpos vêm livres, conjugados, dirigidos contra dois outros diferentes epitopos do TSH humano. A detecção mínima pelo kit é de 0,05 µUI/ml e o valor normal variou de 0,38 a 6,15 µUI/ml.

O anticorpo antitireoglobulina (AcTg) foi dosado por um método quantitativo imunoradiométrico da Biodata Sero Diagnostics. Foram considerados positivos valores maiores que 100 IU/mL.

O anticorpo antimicrosomal (AcM) e/ou anticorpo antiperoxidase (TPOAb) foi dosado também por método imunoradiométrico quantitativo da Biodata - Sero Diagnostics. Foram considerados positivos valores acima de 100 IU/mL.

3. *Análise Estatística*

As variáveis que atendiam a suposição de normalidade, foram analisadas através da Análise de Variância (ANOVA), seguida de comparações múltiplas (método de DUCAN).

Para as demais variáveis foi utilizado a Análise de Variância não paramétrica utilizando-se os scores de Wilcoxon, resultando no teste de Kruskal-Wallis e Van der Waerden. Para estes casos também, em seguida foram feitas as comparações múltiplas.

No estudo das correlações das variáveis de interesse com o T3, T4, TSH e TSHus, foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman.

Os testes foram conduzidos ao nível de significância (α) de 5%.

As análises estatísticas foram realizadas através dos programas "SAS"- Statistical Analysis System, versão 6.08 e SENP - Sistema para Análise Estatística Não-Paramétrica.

Resultados

Os resultados estão apresentados em tabelas, que se encontram a seguir. A média, o desvio padrão e o número de pacientes avaliados (N), estão abaixo destas tabelas.

Obs: (*) Corresponde às variáveis que não apresentaram distribuição normal

Fase de Contato da Coagulação

Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPA)

Não houve diferença estatística na comparação dos três grupos ($p = 0.37$) em relação ao TTPA, e a média encontrada foi 0.99 ± 0.13 no grupo hipertireoideo, 1.02 ± 0.17 no grupo hipotireoideo e 1.05 ± 0.12 no grupo controle. Vide Anexo 6 e gráfico 1.

Fator XI (*)

Não houve diferença significativa entre os grupos ($p = 0.30$). As médias encontradas foram $130\% \pm 54\%$ no hipertireoidismo, $136\% \pm 47\%$ no hipotireoidismo e $108\% \pm 25\%$ nos controles. Vide Anexo 7 e gráfico 2.

Fator XII

Houve diferença significativa entre os três grupos ($p = 0.048$), sendo que os pacientes hipotireoideos apresentaram níveis significativamente menores que os controles. As médias foram 98 ± 42 no hipertireoidismo, 74 ± 16 no hipotireoidismo e 111 ± 19 nos controles. Vide Anexo 8 e gráfico 3.

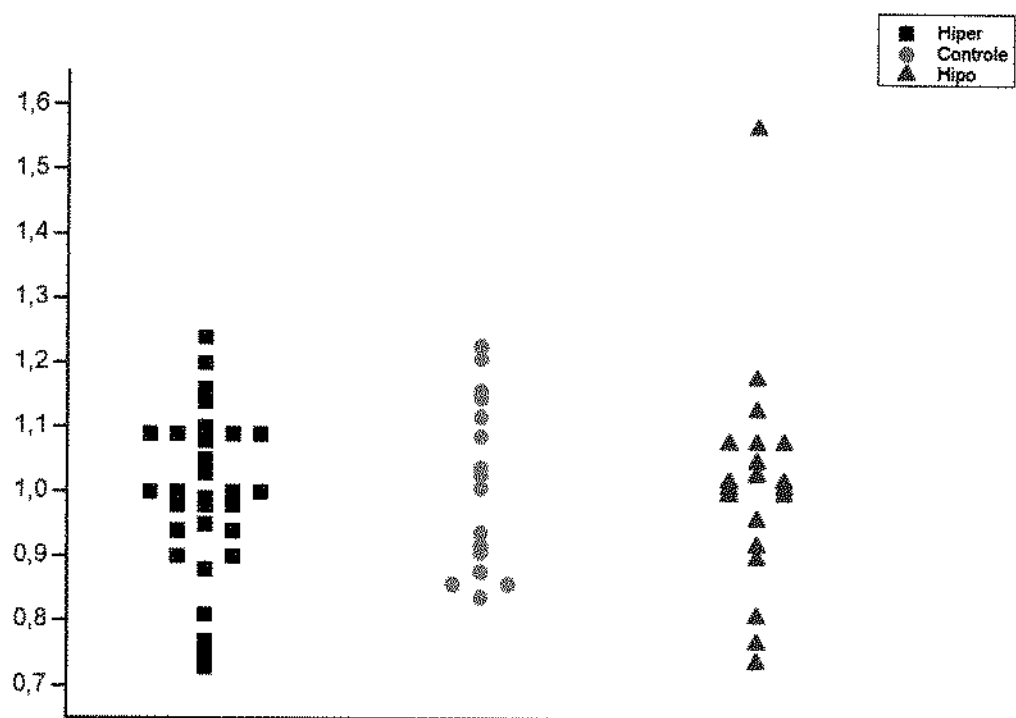


Gráfico 1: Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada

Média	0,99	1,05	1,02
Desvio Padrão	0,13	0,12	0,17
N	32	13	20

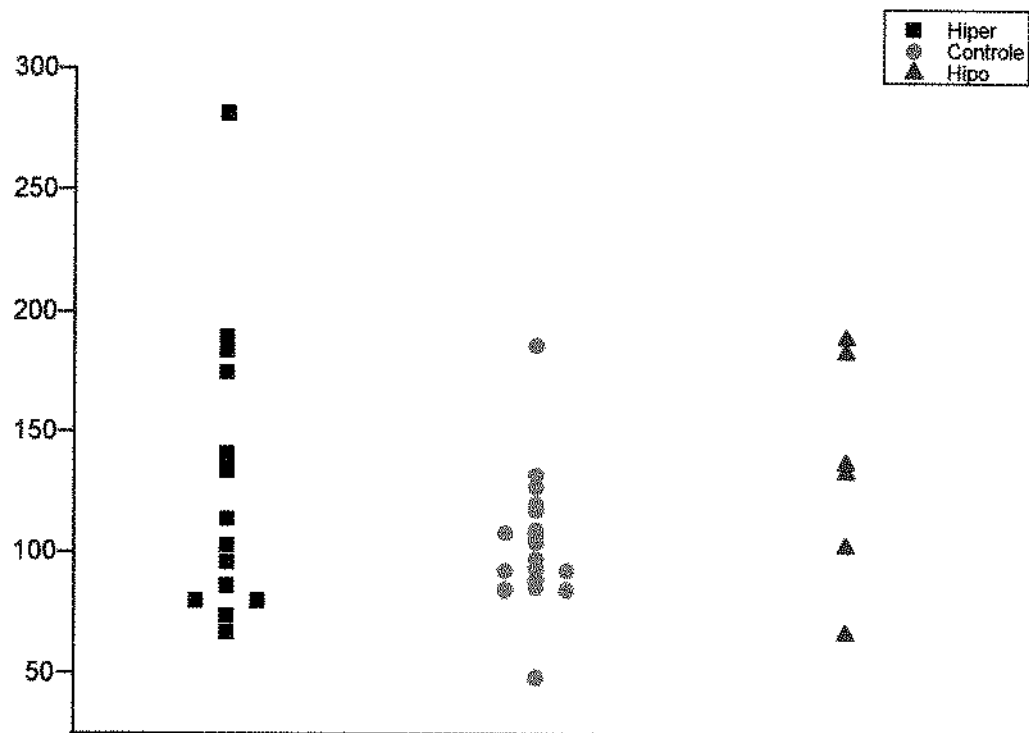


Gráfico 2: Dosagens de Fator XI (%)

Média	130	108	136
Desvio Padrão	54	25	47
N	17	17	6

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

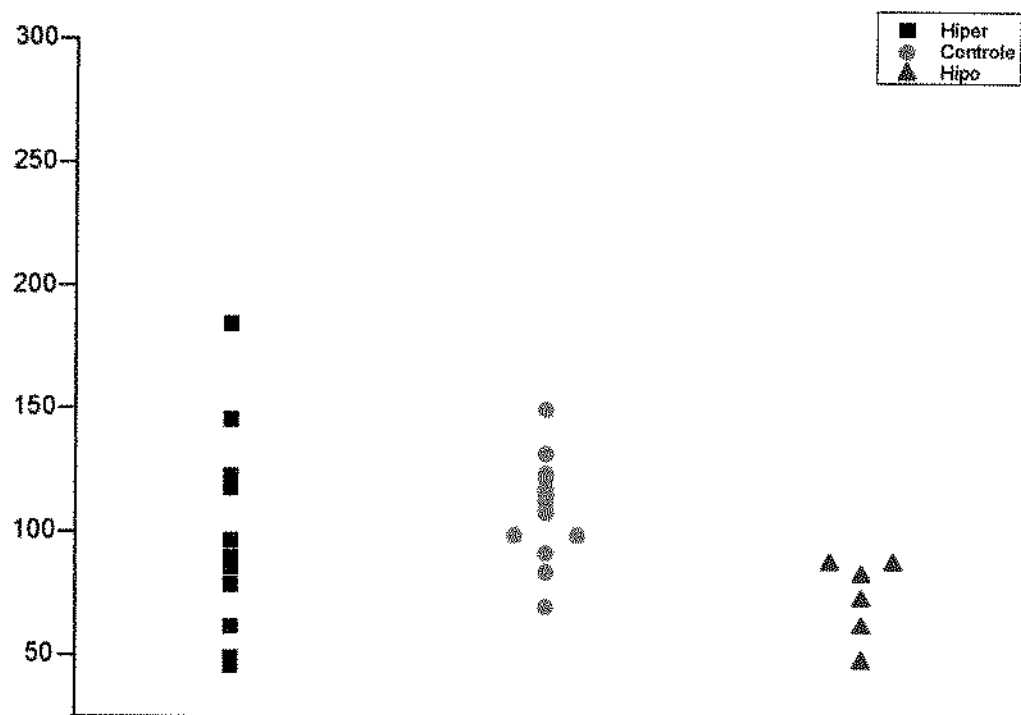


Gráfico 3: Dosagens de Fator XII (%)

Média	98	111	74,6
Desvio Padrão	42	19,6	16
N	11	15	6

Análise de variância - ANOVA $p < 0,05$

Precalicroína Plasmática

Os níveis de precalicroína plasmática foram semelhantes nos três grupos ($p = 0.15$), e não houve diferença significativa entre suas médias $427 \text{ U/ml} \pm 158$ no hipertireoidismo, $476 \text{ U/ml} \pm 184$ no hipotireoidismo e $527 \text{ U/ml} \pm 148$ no grupo controle). Vide anexo 9 e gráfico 4.

C1-Inibidor

Não encontramos diferença significativa quando comparamos os três grupos ($p = 0.14$), sendo as médias encontradas $99\% \pm 16\%$ no hipertireoidismo, $91\% \pm 11\%$ no hipotireoidismo e $96\% \pm 9.2\%$ no grupo controle. Vide anexo 10 e gráfico 5.

Alfa 2-Macroglobulina (*)

A alfa 2-macroglobulina mostrou diferença significativa ($p = 0.0013$) ao compararmos os três grupos. Os níveis encontram-se diminuídos nos hipotireoideos (90 ± 19), em relação aos hipertireoideos (111 ± 27) e controles (125 ± 30). Vide anexo 11 e gráfico 6.

Fator VIII e fator de von Willebrand (*)

Fator VIII

O fator VIII apresentou diferença significativa ($p = 0.0001$) ao compararmos os três grupos e mostrou-se elevado nos pacientes hipertireoideos (239 ± 112) em relação aos controles (98 ± 28) e hipotireoideos (87 ± 37). Não houve diferença significativa entre os pacientes hipotireoideos e o grupo controle. Vide anexo 12 e gráfico 7.

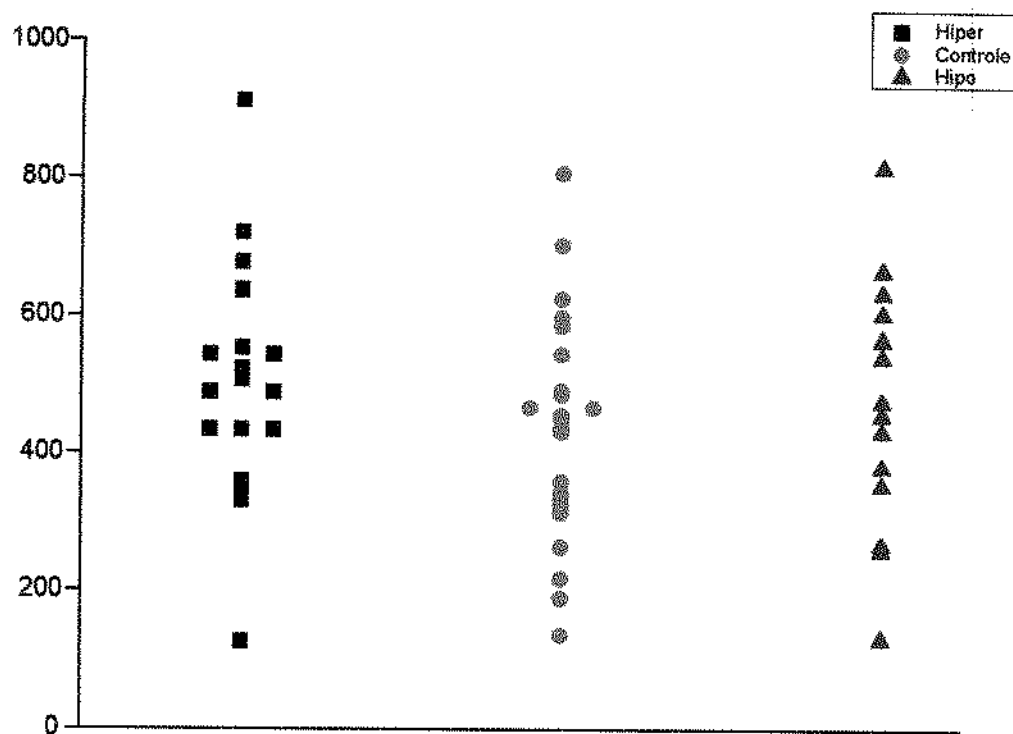


Gráfico 4: Dosagens de Precalicroína (U/L)

Média	427	527	476
Desvio Padrão	158	148	184
N	26	17	14

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS



Gráfico 5: Dosagens de C1 Inibidor (%)

Média	99	96	91
Desvio Padrão	16	9,2	11
N	27	18	20

Análise de variância - ANOVA $p > 0,05$ NS

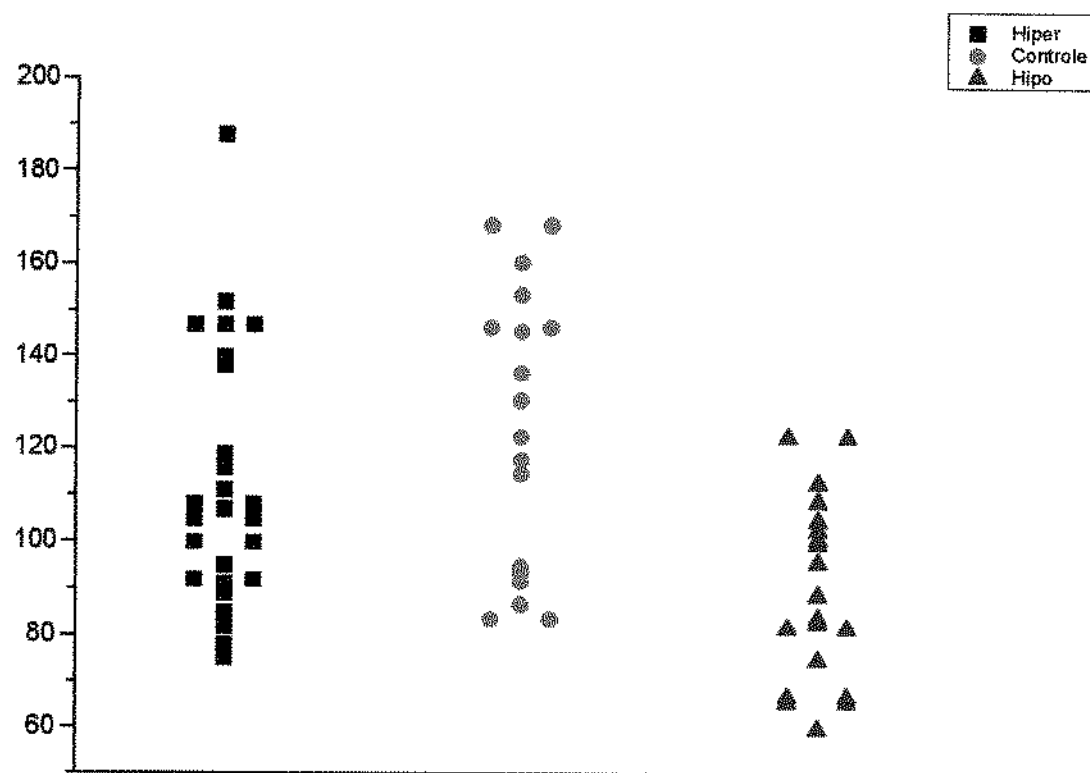


Gráfico 6: Dosagens de $\alpha 2$ Macroglobulina (%)

Média	111	125	90
Desvio Padrão	27	30	19
N	27	18	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

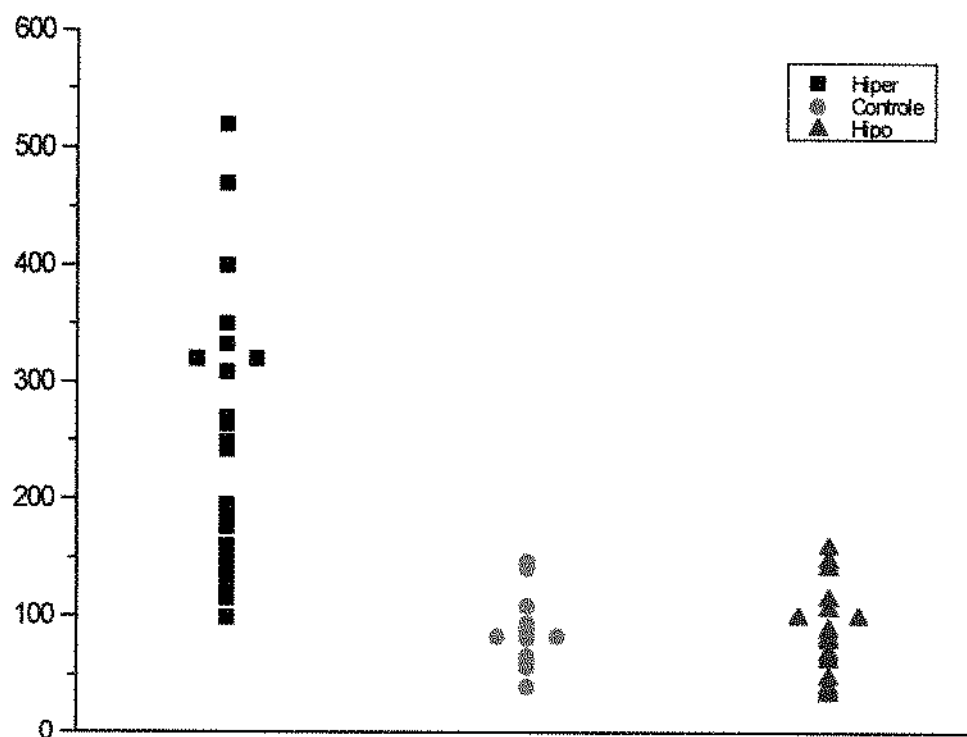


Gráfico 7: Dosagens de Fator VIII (%)

Média	239,9	98.5	87,9
Desvio Padrão	112	28.7	37,4
N	26	13	18

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0,05$

Fator de von Willebrand (*)

O fator de von Willebrand apresentou aumento significativo ($p = 0.0001$) nos pacientes hipertireoideos (233 ± 101), quando comparado aos outros dois grupos. Os hipotireoideos (95 ± 30) e controles (101 ± 18) apresentaram níveis semelhantes. Vide anexo 13 e gráfico 8.

Via Comum e Fibrinólise

Tempo de Trombina (TT)

Não houve diferença significativa na comparação dos três grupos ($p > 0.05$). A média do tempo de TT foi no grupo de hipertireoidismo, no grupo de hipotireoidismo e ± 2.5 no grupo controle. Vide anexo 14 e gráfico 9.

Fibrinogênio

Os pacientes hipotireoideos apresentaram níveis mais elevados (310 ± 98), porém, sem diferença significativa ($p = 0.48$) em relação aos hipertireoideos (288 ± 63) e controles (273 ± 72). Vide anexo 15 e gráfico 10.

Tempo de Lise de Euglobulina (TLE) (*)

Não houve diferença significativa entre os grupos no TLE pré-oclusão. No entanto no TLE pós oclusão houve diferença entre os três grupos; o grupo com hipertireoidismo apresentou tempos prolongados em relação aos grupos com hipotireoidismo e grupo controle. As médias encontradas foram:

TLE pré oclusão(*): Hipertireoidismo 355 ± 112 ; hipotireoidismo 295 ± 132 e controles 243 ± 25 , $p = 0.18$. Vide Anexo 16.

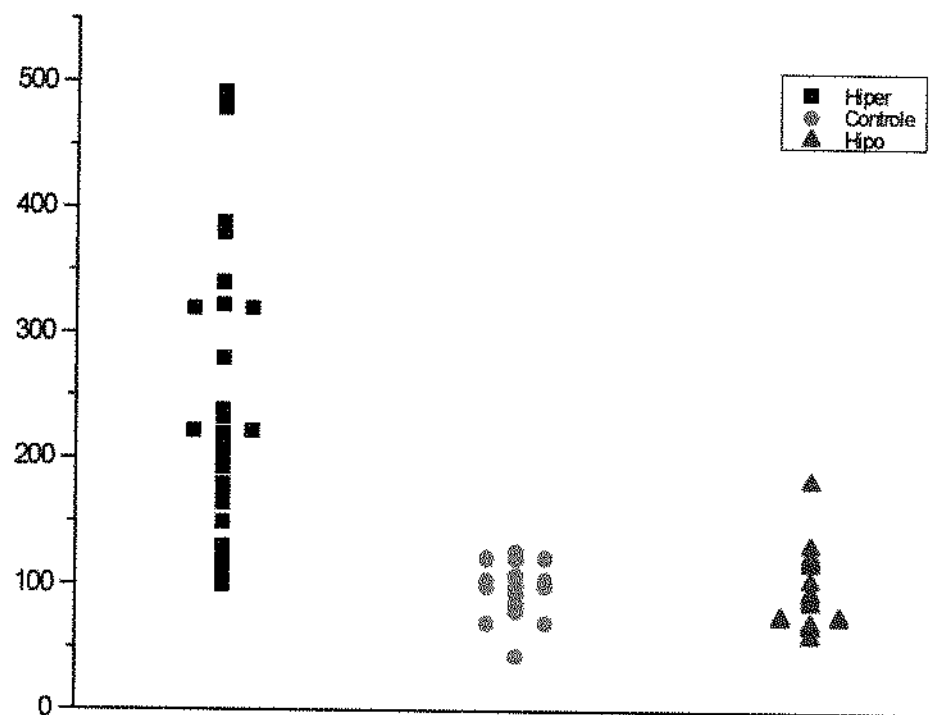


Gráfico 8: Dosagens de von Willebrand (%)

Média	233	101	95
Desvio Padrão	101	18	30
N	32	19	21

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

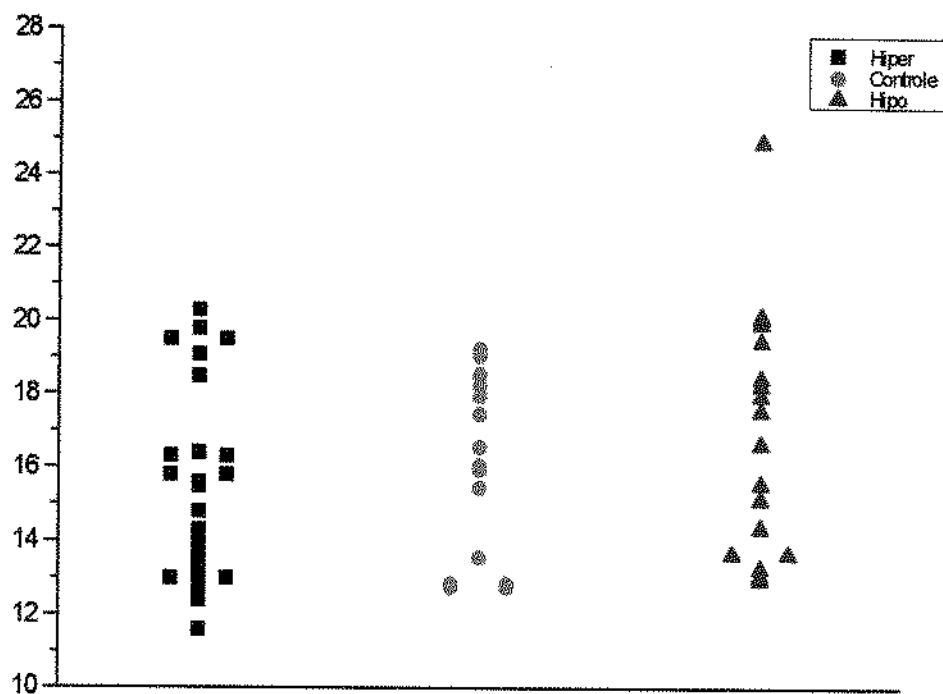


Gráfico 9: Tempo de Trombina

Média	1.02	0.95	1.05
Desvio Padrão	0.09	0.06	0.23
N	29	16	18

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

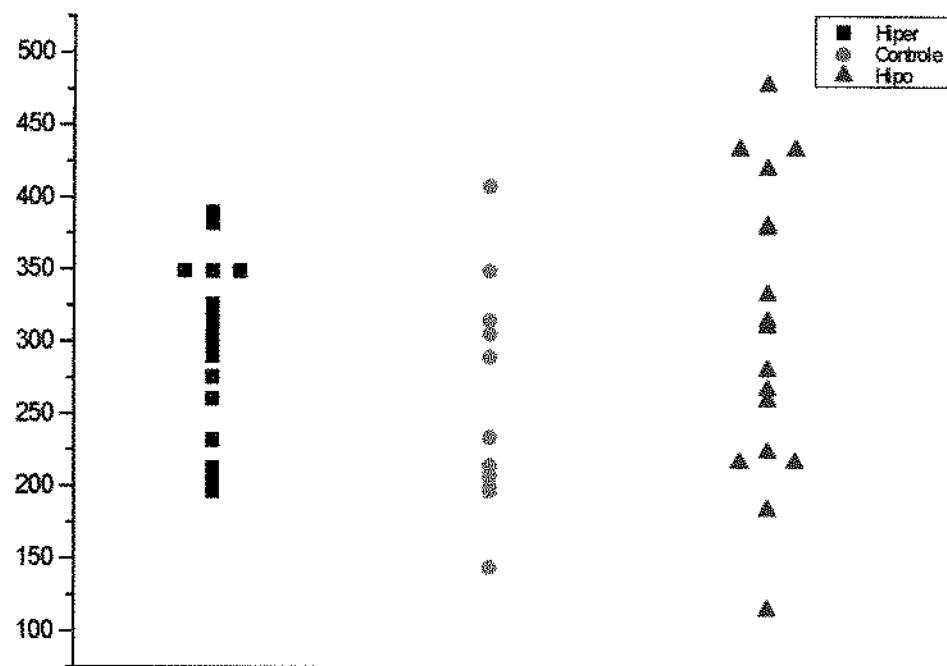


Gráfico 10: Dosagens de Fibrinogênio (mg %)

Média	288	273	310
Desvio Padrão	63	72	98
N	19	10	18

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

TLE pós-oclusão (*): Hipertireoidismo 267 ± 71 ; hipotireoidismo 182 ± 59 e controles 173 ± 34 , $p = 0.007$. Vide Anexo 16.

Comparando as diferenças entre o TLE pré e pós oclusão, houve uma diminuição no TLE pós em relação ao TLE pré, nos 3 grupos. Contudo, essa diferença não foi estatisticamente significativa quando comparamos os 3 grupos.

Área de Lise em placa de fibrina (ALPF) (*)

A ALPF pré e pós-oclusão apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparamos os grupos, estando diminuída no hipertireoidismo em relação ao hipotireoidismo. As médias encontradas foram:

ALPF pré-oclusão (*): Hipertireoidismo 66 ± 26 ; hipotireoidismo 101 ± 31 e controles 89 ± 39 , $p = 0.04$. Vide Anexo 17.

ALPF pós-oclusão (*): Hipertireoidismo 139 ± 140 ; hipotireoidismo 161 ± 36 e controles 141 ± 53 , $p = 0.04$. Anexo 17.

Comparando as diferenças da ALPF pré e pós oclusão, os valores foram semelhantes.

Inibidores da Coagulação

Proteína C (*)

A proteína C não apresentou variação na análise dos três grupos ($p = 0.32$). As médias encontradas foram: no hipertireoidismo 84 ± 27 , no hipotireoidismo 101 ± 41 e 81 ± 15 nos controles. Vide anexo 18 e gráfico 11.

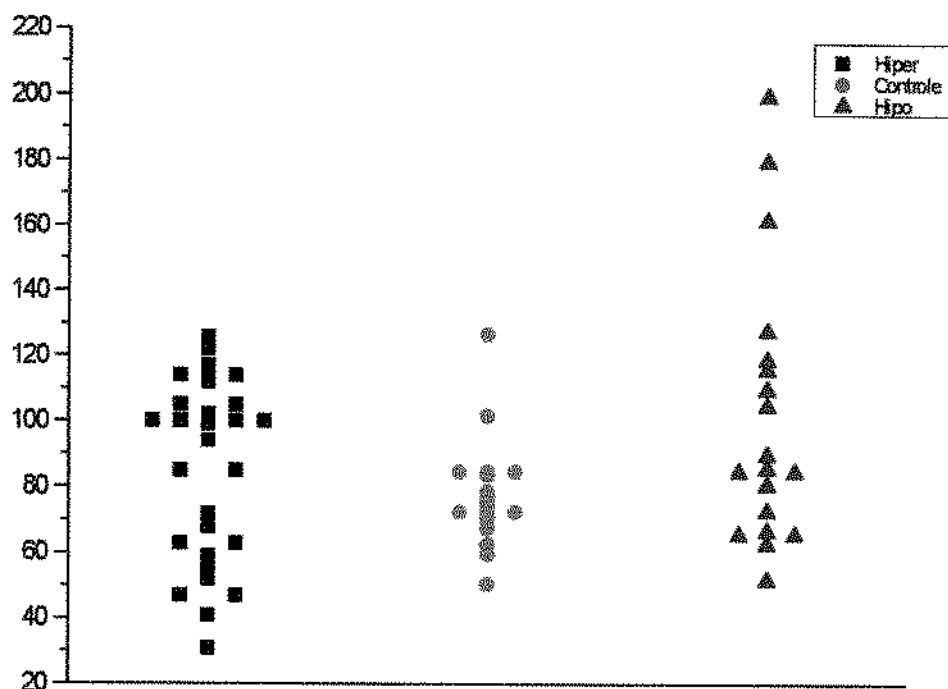


Gráfico 11: Dosagens de Proteína C (%)

Média	84	81	101
Desvio Padrão	27	15	41
N	31	15	19

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Proteína S Total (*)

A dosagem da proteína S total não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparamos os grupos ($p = 0.08$). As médias foram 94 ± 7.8 nos hipertireoideos, 97 ± 11 nos hipotireoideos e 91 ± 16 nos controles. Vide anexo 19 e gráfico 12.

Proteína S Livre

Não houve diferença significativa quando comparamos os três grupos ($p = 0.27$) e as médias foram 91 ± 21 nos hipertireoideos, 83 ± 16 nos hipotireoideos e 83 ± 21 nos controles. Vide anexo 20 e gráfico 13.

Avaliação da função de Síntese Hepática

Tempo de Protrombina (TP)

O TP não mostrou diferença significativa na comparação dos três grupos, cujos valores médios foram 1.12 ± 0.10 no hipertireoidismo, 1.09 ± 0.12 no hipotireoidismo e 1.05 ± 0.07 no grupo controle ($p = 0.06$). Vide anexo 21 e gráfico 14.

Fator V (*)

Não houve diferença estatisticamente significante ($p = 0.20$) entre os grupos em relação a dosagem do fator V, que foi 107 ± 43 nos hipertireoideos, 118 ± 37 nos hipotireoideos e 100 ± 34 no grupo controle. Os valores estão representados na anexo 22 e gráfico 15.

Fator VII

Não houve diferença significativa ao compararmos os três grupos ($p = 0.31$). As médias foram $103\% \pm 32\%$ no hipertireoidismo, $113\% \pm 34\%$ no hipotireoidismo e $92\% \pm 25\%$ nos controles. Vide anexo 23 e gráfico 16.

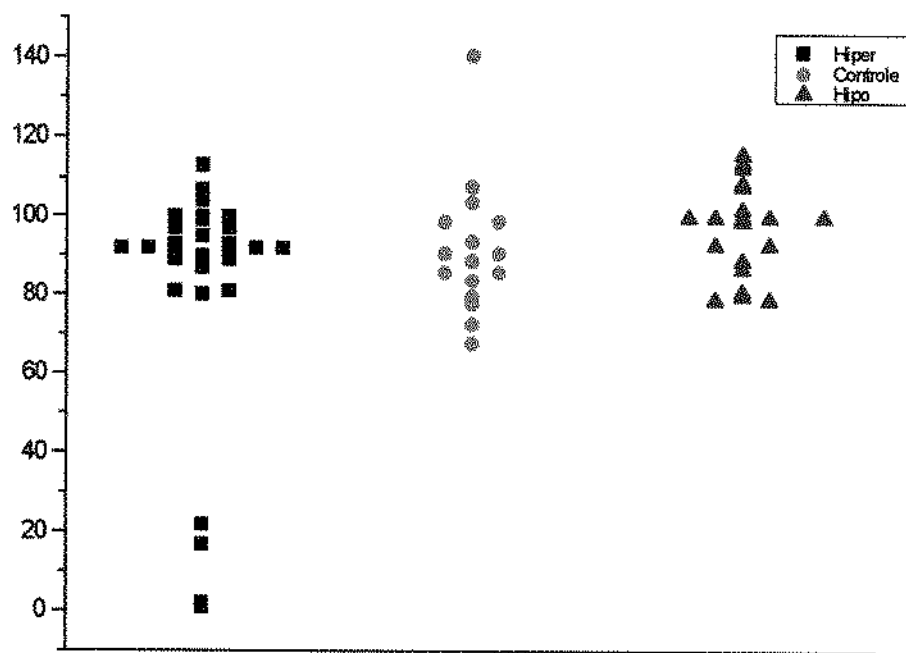


Gráfico 12: Dosagens de Proteína S Total (%)

Média	94	91	97
Desvio Padrão	7,8	16	11
N	27	17	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

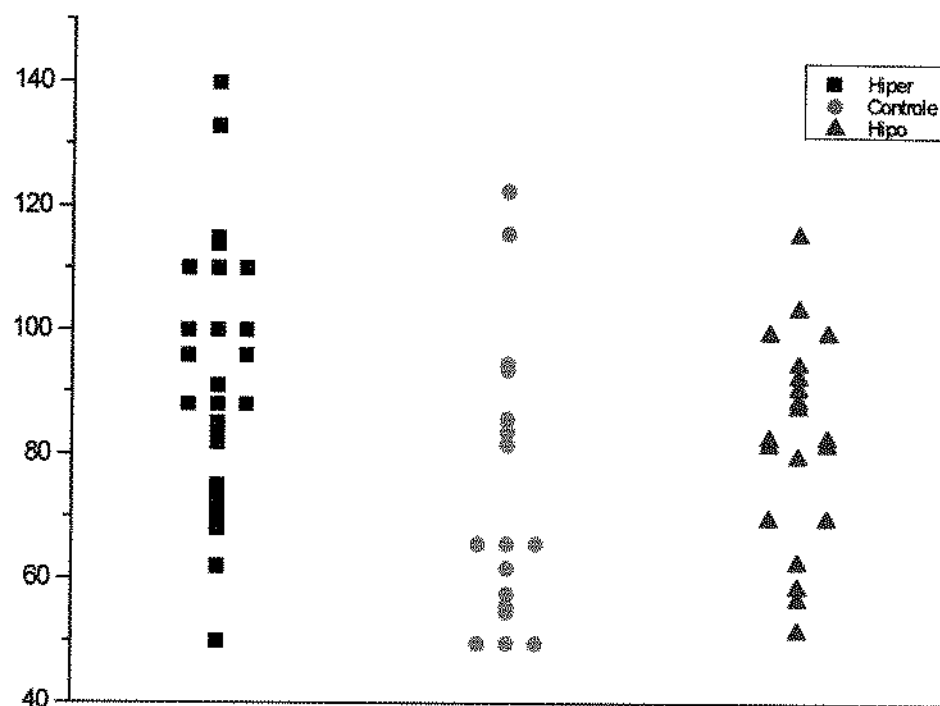


Gráfico 13: Dosagens de Proteína S Livre (%)

Média	91	83	82
Desvio Padrão	21	21	16
N	27	12	20

Análise de variância - ANOVA $p < 0.05$

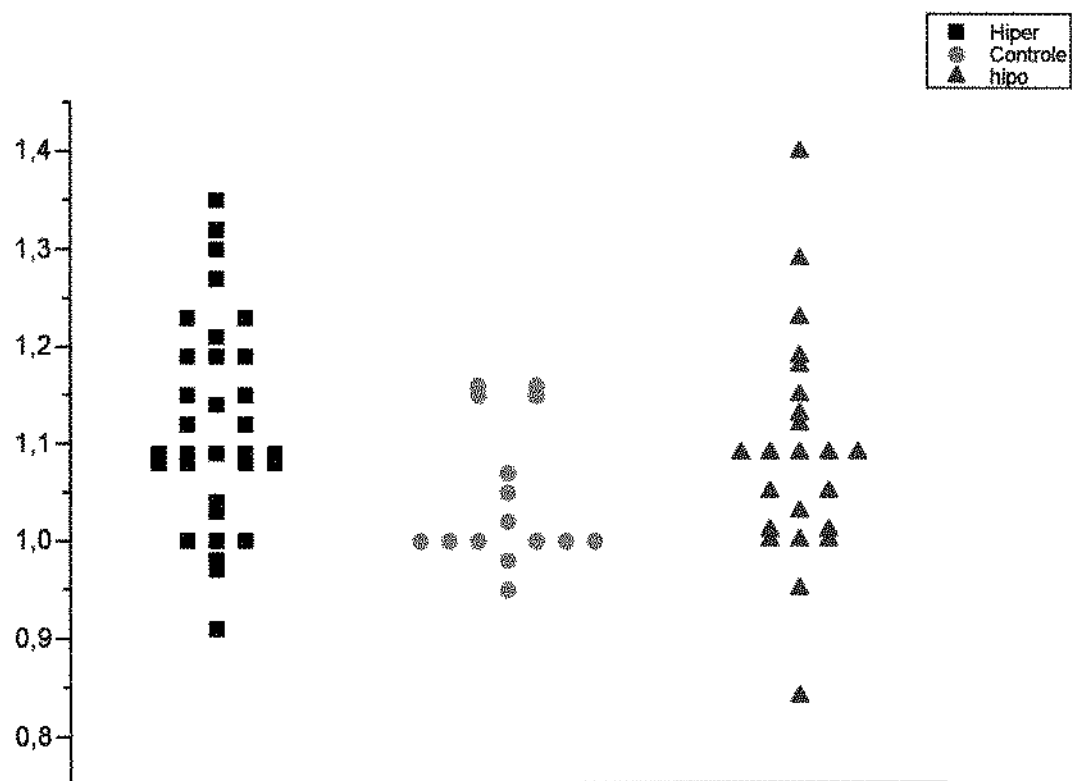


Gráfico 14: Tempo de Protrombina (min/seg)

Média	1,12	1,05	1,09
Desvio Padrão	0,10	0,07	0,12
N	32	15	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

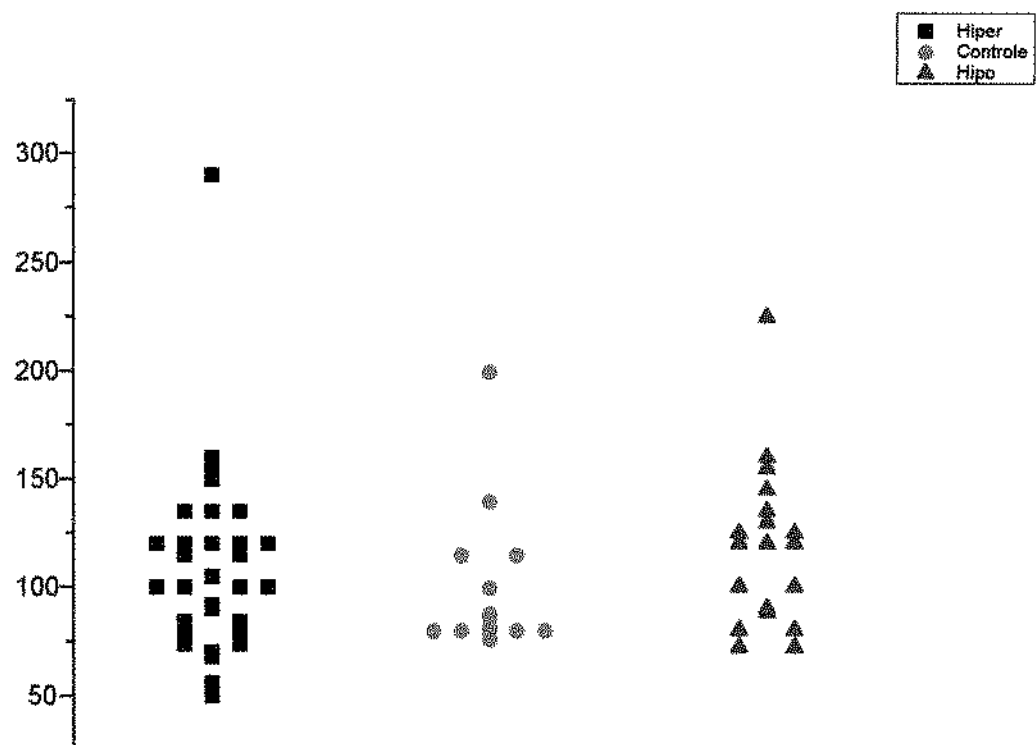
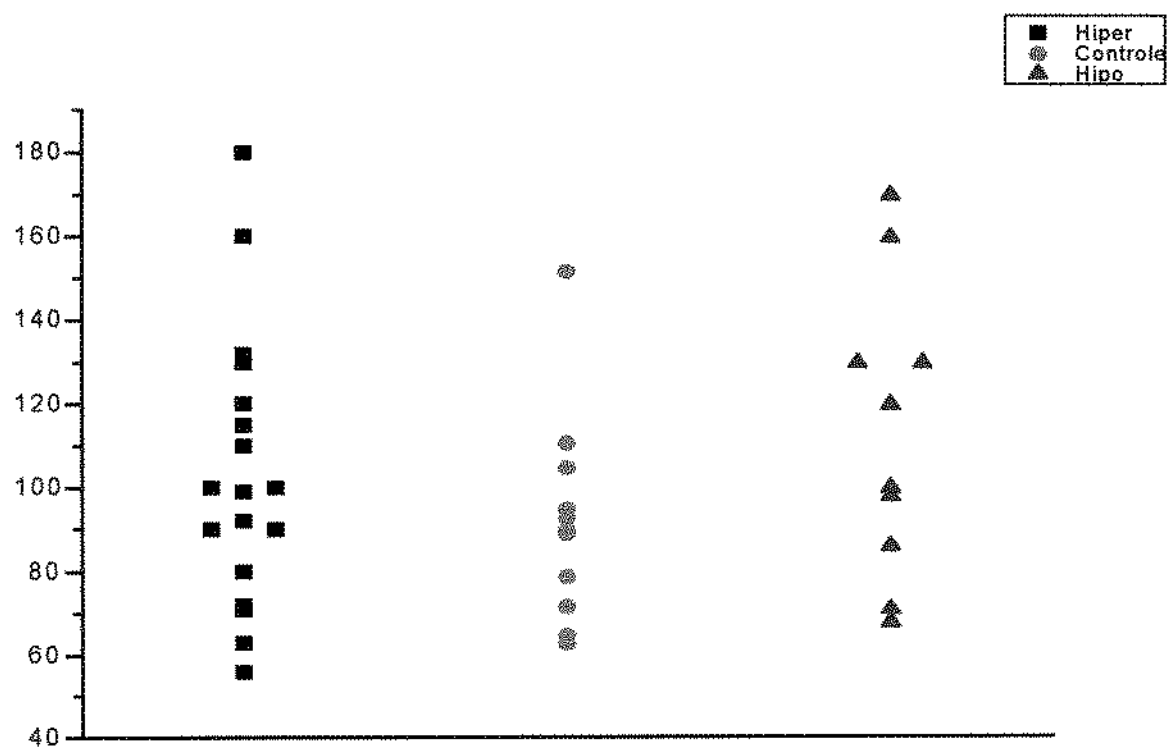


Gráfico 15: Dosagens de Fator V (%)

Média	107	100	118
Desvio Padrão	43	34	37
N	32	14	19

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ N

Gráfico 16: Dosagens de Fator VII (%)



Média	103	92	113
Desvio Padrão	32	25	34
N	18	11	10

Análise de variância - ANOVA $p > 0,05$ NS

Pré-Albumina (*)

A pré-albumina apresentou diferença estatística quando comparamos os três grupos ($p = 0.12$), estando aumentada nos hipotireoideos (95 ± 28) em relação aos controles (75 ± 12); mas não em relação aos hipertireoideos (81 ± 36). Vide anexo 24 e gráfico 17.

Correlações

A análise das correlações das diversas variáveis com o T3, T4, TSH e TSHus, mostrou apenas:

No hipertireoidismo uma correlação positiva entre o peso e os níveis de TSHus ($p = 0.02$), e uma correlação negativa entre os níveis de prealbumina e T3 e T4 ($p=0.017$ e 0.0002 , respectivamente.) (Vide anexo 25 a);

No grupo dos pacientes com hipotireoidismo, não houve correlação entre as variáveis analisadas. (Vide anexo 25 b).

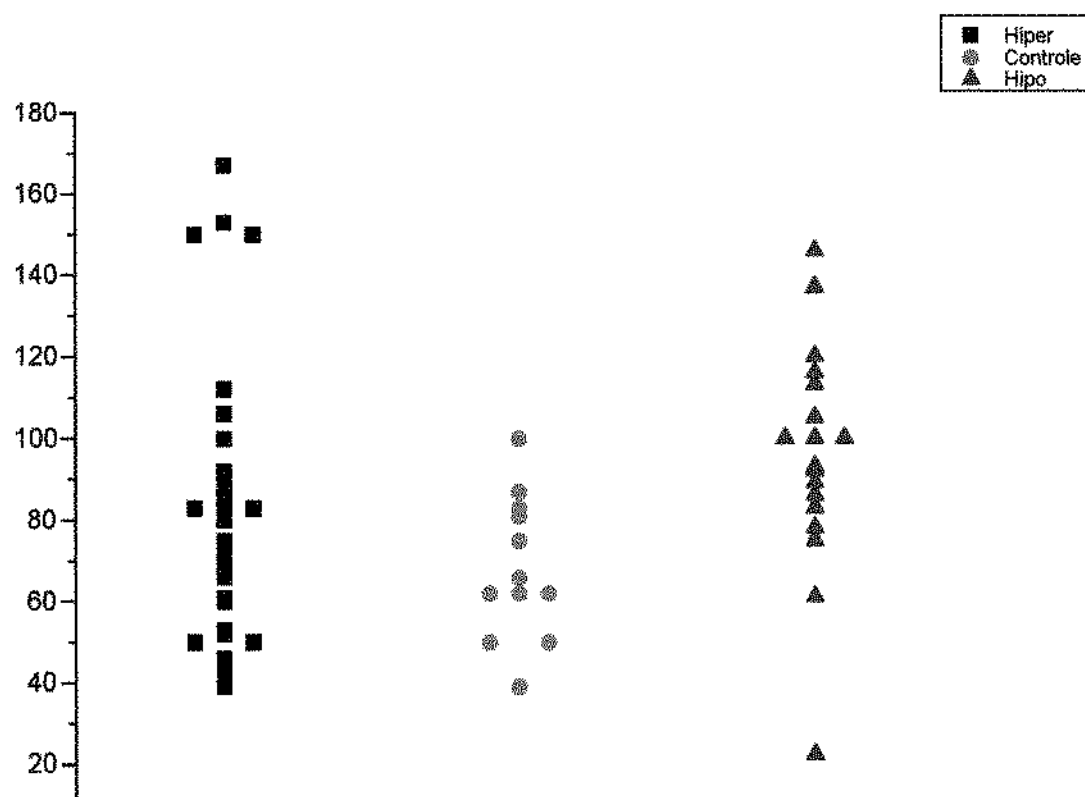


Gráfico 17: Dosagens de Prealbumina (%)

Média	81	75	95
Desvio Padrão	36	12	28
N	29	10	18

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

Discussão

O estudo da coagulação sanguínea nas doenças da tireóide está restrito apenas a alguns trabalhos e muitos componentes envolvidos na hemostasia não foram avaliados anteriormente.

Neste estudo avaliamos vários parâmetros da hemostasia sanguínea incluindo fatores e os principais inibidores da coagulação e da fibrinólise em pacientes com disfunções tireoidianas.

A avaliação de alguns componentes da fase de contato em nossos pacientes mostrou, apenas naqueles com hipotireoidismo, uma diminuição do fator XII. A fase de contato da coagulação é ativada quando o fator XII, na presença de uma superfície com carga negativa, é ativado e, junto com o cininogênio de alto peso molecular transforma a precalicreína plasmática em calicreína. Este complexo (fator XII, cininogênio de alto peso molecular e calicreína plasmática) ativará o fator XI, dando continuidade à via intrínseca da coagulação (Colman R.W., 1977; Miller D.H., 1989; Bloom A.L., 1990 e col.). As calicreínas estão presentes em muitos tecidos como rim, pâncreas, hipófise anterior, cérebro e nos fluidos corpóreos como sangue, urina e saliva. Outras substâncias "kallikrein-like" foram descritas na membrana dos eritrócitos, espermatozoides, estômago e tireóide.

Uma das nossas hipóteses é que talvez houvesse ativação da fase de contato em doenças da tireóide, mediada por substâncias "kalikrein-like" encontradas nas células tireoidianas. Esse tipo de ativação por substâncias "kallikrein-like" foi descrito anteriormente na talassemia maior (Andrew M. e col.). A atividade "kallikrein-like" em todos os pacientes com doença tireoideana, medida através da atividade espontânea do plasma sobre o substrato cromogênico, mostrou-se inferior a 2% do total de atividade de calicreína gerada pela ativação da precalicreína. Portanto, esses resultados descartam essa possibilidade.

Rennie e Cols, (1978) ao avaliarem pacientes com hipotireoidismo também verificaram uma diminuição do fator XII, e sugeriram que essa diminuição fosse secundária a uma redução da

síntese proteica. Nossos achados não favorecem essa hipótese, uma vez que avaliamos em nossos pacientes com hipotireoidismo, outros fatores da coagulação também sintetizados no fígado, e mais sensíveis às alterações da síntese proteica hepática, como o fator VII, o fator V e a precalicreína plasmática, e estes não se encontram diminuídos.

A prealbumina, outro parâmetro que pode ser utilizado para a avaliação da função de síntese hepática, não está diminuída nos pacientes com hipotireoidismo e sim aumentada, o que talvez possa ser explicado pelo seu papel carreador do hormônio tireoidiano.

O achado de uma correlação negativa entre os níveis de T3 e T4 e a prealbumina favorecem a hipótese que os níveis de prealbumina variam devido a sua ligação com o hormônio tireoidiano.

É descrito que pacientes com aterosclerose coronariana e hipercolesterolemia apresentam uma ativação da fase de contato da coagulação (Pitt B. e col., 1969; Hashimoto K. e col., 1975; Carvalho A. C. e col., 1974). Como no hipotireoidismo é frequente o achado de alterações coronarianas, mesmo assintomáticas, assim como o aumento de colesterol, poderíamos também encontrar alterações da fase de contato em nosso grupo de estudo. Contudo, nossos dados não favorecem tal hipótese, pois os níveis de precalicreína plasmática, C1-inativador e alfa 2-macroglobulina não estão diminuídos.

A alfa 2-macroglobulina esteve diminuída significativamente ($p < 0.05$) nos pacientes com hipotireoidismo em relação aos controles e pacientes hipertireoideos. A alfa 2-macroglobulina tem uma ampla especificidade como inibidor, inibindo a maioria das proteases conhecidas. Parece não se comportar como proteína de fase aguda apresentando-se praticamente inalterada nos processos infecciosos e no câncer (Chawla 1984, Cooper 1979). A diminuição encontrada em nossos pacientes talvez esteja relacionada às alterações de hiperfibrinólise encontrada nesses pacientes.

Portanto, pelos nossos resultados, a fase de contato não parece estar ativada nas doenças tireoidianas.

As vias da coagulação sanguínea podem ser avaliadas através de exames laboratoriais como o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA), tempo de protrombina (TP) e tempo de trombina (TT), que permitem uma triagem da via intrínseca, extrínseca e comum, respectivamente.

Contudo, somente quando há uma redução importante no nível dos fatores de coagulação, ou na presença de um inibidor, é que esses exames vão se mostrar alterados. Isto porque são testes laboratoriais pouco sensíveis a pequenas alterações dos componentes da coagulação.

O TP, o TTPA e o TT não mostraram nenhuma alteração tanto nos pacientes com hipotireoidismo, quanto nos pacientes com hipertireoidismo, quando comparados entre si, ou em relação ao grupo controle. Portanto, isto sugere que nestes pacientes não há uma diminuição importante de alguns ou de vários fatores da coagulação das vias intrínseca, extrínseca e comum, e nem a presença de um inibidor.

As dosagens dos fatores da coagulação, como o fator V, fator VII, fator VIII, fator XI e fator XII, realmente comprovam que não houve nenhuma diminuição importante, isto é, abaixo de 30%, em nenhuma das amostras testadas.

Apenas a média do fator XII foi significativamente menor nos pacientes com hipotireoidismo. Porém em nenhum paciente, a diminuição estava em níveis que pudessem levar a um prolongamento do TTPA.

Observamos uma elevação significativa nos níveis de fator VIII e fator de von Willebrand nos pacientes com hipertireoidismo, conforme já relatado por outros autores (Simone J. V. e

Cols., 1965 e Rogers J.S. e Cols. 1982). Não notamos diminuição dos níveis desses fatores nos pacientes hipotireoideos, embora na literatura alguns estudos relatem essa diminuição, e outros não (Rennie J.A.N. e Cols., 1978; Rogers J.S. e Cols., 1982; Mac Callum P.K. e Cols., 1987; Swith S.R. e Col.s, 1987; Takahashi H. e Cols., 1987; Thorton J.G. e Cols., 1987).

Muitos autores descreveram a possibilidade dessas alterações do fator VIII e do fator de von Willebrand serem mediadas pelas catecolaminas (Britton B. e col., 1976; Landsberg L. e col., 1977; Bilezikian J.D. e col., 1983). Longbin e col., 1993, demonstraram haver correlação entre esses fatores e o nível de T3. Outros consideraram a possibilidade da vasopressina poder agir como um mensageiro humoral a nível do sistema nervoso central, induzindo a liberação ou a diminuição do fator VIII, e que talvez a tironina (TRH) possa ter um papel regulador na modulação da vasopressina (Rogers e col., 1982; Rogers II J.S. e col., 1983). Uma das hipóteses recentes é que a triiodotironina possa agir nos receptores nucleares, e causar um aumento de RNA mensageiro. Por outro lado, a redução dos níveis de hormônio tireoidiano, diminuiria a quantidade de RNA mensageiro específico para o fator VIII, levando então a uma diminuição na síntese de moléculas de fator VIII (Blesing e col., 1990).

Na fase experimental do nosso trabalho, investigamos a via adrenérgica na indução do aumento do fator VIII, utilizando cães hipertireoideos como modelo experimental, e a ação do β -bloqueador. Esses resultados serão discutidos adiante.

Nossos resultados mostraram níveis elevados de fibrinogênio, tanto nos pacientes com hipotireoidismo, como com hipertireoidismo, em relação aos controles, embora sem significância estatística. Esses resultados estão em concordância com o observado por outros autores (Hume R. e col., 1965; Bennet N.B. e col., 1967; Marongiu F. e col., 1988). O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda, estando elevado em várias situações clínicas. Talvez seja esse o mecanismo

envolvido no aumento do fibrinogênio encontrado nas doenças tireoidianas. Entre o hipertireoidismo e o hipotireoidismo há diferenças na síntese e degradação das proteínas, pois no primeiro há um estímulo e no segundo uma diminuição destes processos. Porém, este mecanismo não parece interferir com o fibrinogênio, uma vez que o mesmo encontra-se elevado nas duas formas de doença tireoidiana.

Embora a elevação nos níveis de fator VIII, fator de von Willebrand, de fibrinogênio e hipofibrinólise tenham sido descritas no hipertireoidismo, fenômenos tromboembólicos não são descritos frequentemente. Talvez haja um balanço entre ativadores e inibidores da coagulação, agindo como um mecanismo protetor nos pacientes hipertireoideos, evitando fenômenos trombóticos (Hume R. e Cols., 1965), além do estado de hiperperfusão.

Os inibidores naturais, proteína C e proteína S não haviam sido estudados previamente nas doenças tireoidianas. A proteína C mostrou-se aumentada nos pacientes hipotireoideos porém, sem diferença significativa entre os grupos. Alguns autores relatam que níveis elevados de proteína C, como observado em pacientes com doença coronariana isquêmica e diabetes mellitus, podem ser considerados como um mecanismo compensador do organismo, frente a um estado de hipercoagulabilidade, propiciado por essas patologias (Viganó S. e col., 1984; Oliveira P.D. e col., 1991). Além disso, em indivíduos normais, os níveis de proteína C são influenciados pelos níveis de triglicérides. Como no hipotireoidismo vários desses fatores podem estar presentes, como doença aterosclerótica e hipertrigliceridemia, talvez o aumento da proteína C verificado em nossos pacientes seja secundário a estes fatores. No entanto, o nível de proteína S total e livre foram semelhantes nos três grupos.

Neste estudo a fibrinólise foi avaliada pelo tempo de lise da euglobulina e pela área de lise em placa de fibrina. Os resultados mostraram diferença significativa na área de lise em placa de

fibrina pré e pós oclusão entre os pacientes com hipotireoidismo e hipertireoidismo, com um tempo diminuído no primeiro e aumentado no segundo grupo. Portanto, os exames revelam uma atividade fibrinolítica diminuída no hipertireoidismo e aumentada no hipotireoidismo. Porém comparando as diferenças da ALPF pré e pós oclusão, os valores foram semelhantes nos tres grupos. Apenas o tempo de lise da euglobulina pós-oclusão mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, apresentando o grupo hipertireoideo tempo prolongado em relação aos grupos com hipotireoidismo e controle, confirmando os achados da área de lise em placa de fibrina. Isto é, há uma tendência a hipofibrinólise no hipertireoidismo. Comparando as diferenças entre a TLE pré e pós oclusão, houve uma diminuição no TLE pós em relação ao TLE pré nos tres grupos. Contudo essa diferença não foi estatisticamente significante quando comparamos os três grupos.

Como já discutido por outros autores (Rennie JAN e cols 1978, Farid N e cols 1976, Hume R e cols 1965, Bennet NB e cols 1967), talvez a tendência a hiperfibrinólise nos pacientes com hipotireoidismo tenha um efeito protetor contra doença vascular oclusiva, uma vez que a incidência de infarto nesses pacientes não está aumentada em relação a população normal. A diminuição da α 2-macroglobulina, que é um inibidor de segunda ordem da plasmina, talvez seja uma expressão do consumo aumentado secundário à hiperfibrinólise. A tendência ao aumento da proteína C, que têm uma ação profibrinolítica, nos pacientes com hipotireoidismo talvez também contribua para a hiperfibrinólise detectada nestes pacientes. Já no hipertireoidismo, a diminuição da atividade fibrinolítica, talvez possa ser explicada pela diminuição de catecolaminas, descrita nesses pacientes.

Finalmente, devido a alterações do metabolismo proteico secundário aos distúrbios da função tiroidianas, os trabalhos anteriores concluíram que no hipotireoidismo, a diminuição dos fatores de coagulação seria decorrente de alterações na síntese proteica. No hipotireoidismo há

uma diminuição generalizada na síntese e catabolismo das proteínas. Esta redução não é uniforme e, portanto, a concentração de uma proteína depende do balanço final entre o catabolismo e a síntese da mesma (Loeb JN e cols, 1989). Contudo, numa análise mais cuidadosa, o que se verifica é que essa diminuição dos fatores de coagulação, foi baseada em reduzida casuística e muitas vezes, no achado de concentrações isoladas reduzidas de fatores da coagulação. Como já discutimos anteriormente, vários dos fatores envolvidos na hemostasis analisados neste trabalho, em pacientes com hipotireoidismo, que dependem de uma função de síntese proteica hepática adequada, estão normais.

Fase Experimental

Introdução

A interrelação entre os níveis dos fatores VIII e de von Willebrand com a função tireoidiana já foi anteriormente descrita (Simone e Cols, 1965; Farid e Cols, 1976; Rennie e Cols, 1978; Rogers e Cols, 1982; Dalton e Cols, 1987; Palaredi e Cols, 1989) e confirmada, na fase clínica deste estudo. Porém os mecanismos regulatórios envolvidos nesta relação permanecem apenas hipotéticos.

Alguns estudos anteriores demonstraram a normalização dos níveis dos fatores VIII em pacientes com doença tireoidiana, a medida em que os pacientes eram tratados adequadamente e se tornavam eutireoidianos (Bennett e Cols, 1967; Rogers e Cols, 1982).

Alguns autores demonstraram um possível papel das catecolaminas em relação ao aumento do fator VIII no hipertireoidismo (Ingram e Cols, 1966; Landsberg e Cols, 1977; Bilezikian e Cols, 1983).

Porém apenas em 1993, Longbin e Cols, em estudo prospectivo em pacientes hipertireoideos, com dosagens dos hormônios tireoidianos e fator de von Willebrand, pré e pós tratamento com tiroxina (T4) e pré e pós uso de propranolol, confirmaram a relação entre os níveis de hormônio tireoidiano e do fator de von Willebrand, bem como a influência das catecolaminas sobre os níveis do fator de von Willebrand, independente da variação dos níveis de T3 e T4.

Objetivos

Como já citado anteriormente, os objetivos desta fase do estudo são:

- a) Padronizar a indução do hipertireoidismo em um modelo experimental
- b) Padronizar a dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand no modelo experimental em estudo.
- c) Avaliar os níveis séricos dos fatores VIII e de von Willebrand no modelo experimental e correlacioná-los com a concentração plasmática de hormônios tireoidianos.
- d) Avaliar a importância dos receptores beta adrenérgicos sobre os níveis séricos dos fatores VIII e de von Willebrand e dos hormônios tireoidianos, após a indução do hipertireoidismo.

Material e Métodos

1. Padronização da Técnica de Indução de Hipertireoidismo em Animais

Ratos - A indução de hipertireoidismo foi realizada em ratos Wistar-Hannover, com peso de aproximadamente 250 gramas, pela administração diária intra peritoneal de tiroxina 0,2ml, obtida da diluição de 10 comprimidos de tiroxina de 100ug em 1ml de NaOH 0.1N e 7ml de NaCl 0.9% (concentração final = 0,125 µg/µl), por 10 dias. Ratos controles receberam uma injeção de soro fisiológico intraperitoneal, no mesmo volume da tiroxina, durante 10 dias.

Apesar de trabalhos anteriores terem dosado alguns fatores da coagulação em ratos, por problemas técnicos em relação à quantidade de sangue coletado, formação de coágulo nas amostras e de não reprodutibilidade na padronização do fator de von Willebrand, mudamos o modelo experimental para cães (Shaw e Cols, 1979; Owens e Cols, 1983; Dejana e Cols, 1984; Andriuoli e Cols, 1985; Owens e Cols, 1986; Bloom e Cols, 1988).

Cães - Utilizamos grupos de 5 a 6 cães de cada vez, totalizando grupos de 10 cães (6 para indução do hipertireoidismo e 4 controles). Inicialmente os três primeiros grupos de cães receberam 100mg/kg/dia de puram T4, em meio a um bolo de carne, por 10, 14 ou 30 dias (via oral). Além dos dez cães, foram colhidas amostras de sangue de 10 cães normais, para um "pool" de plasmas, utilizado como controle, durante as dosagens dos hormônios tireoídianos, fatores VIII e de von Willebrand. No quarto grupo utilizamos 08 cães, 05 para indução do hipertireoidismo que receberam triiodotironina (T3), por 14 dias, subcutâneo e 03 cães controles que receberam SF0.9% subcutâneo.

2. *Bloqueio Adrenérgico*

Foi realizado pela administração de propranolol (β -bloqueador) 3 mg/kg peso, três vezes ao dia, por 2 dias. Grupos com 10,14 e 30 dias de indução. (Britton e Cols, 1976; Crozatier e Cols, 1991; Suga e Cols, 1991, Prentice e Cols, 1972).

- **Grupo I (10 dias de indução VO):** Propranolol D11 e D12.
- **Grupo II (14 dias de indução VO):** Propranolol D15 e D16.
- **Grupo III (30 dias de indução VO):** Propranolol D31 e D 32.
- **Grupo IV (14 dias de indução SC):** Propranolol D15 e D16.

3. *Dosagem dos Fatores VIII e de von Willebrand*

Foram dosados de acordo com os métodos utilizados para a dosagem desses fatores nos pacientes, porém, com curvas padrões de um pool de cães normais, colhido ao final de cada grupo. As amostras coletadas (nos dias especificados abaixo) foram armazenadas no freezer a -80°C.

4. *Dosagem do T e T4*

Foram dosados utilizando-se o método quantitativo de radioimunoensaio com o kit Coat-A-Count Canine T4 e Coat-A-Count T3, da DPC (Diagnostic Products Corporation). As amostras de sangue foram colhidas nos dias descritos abaixo e armazenadas no freezer à -80 C, até sua dosagem.

5. Coleta das Amostras

As amostras de sangue para dosagem de fator VIII e fator de von Willebrand, e T3 e T4 foram coletadas dos diferentes grupos, conforme descrito abaixo:

- **Grupo I (10 dias de indução VO)**

D1=Dia 1 - pré uso de puran T4

D2=Dia 10 - após uso de puran T4 (Vide esquema 1)

D3=Dia 12 - após uso de puran T4 + propranolol

- **Grupo II (14 dias de indução VO).**

D1=Dia1 - pré uso de puran T4

D2=Dia14 - após uso de puran T4 (Vide esquema 2)

D3=Dia16 - após uso de puran T4 + propranolol

- **Grupo III (30 dias de indução VO)**

D1=Dia 1 - pré uso de puran T4

D2=Dia 30 - pós uso de puran T4 (Vide esquema 3)

D3=Dia 32 - pós uso de puran T4 + propranolol

- **Grupo IV (14 dias de indução SC)**

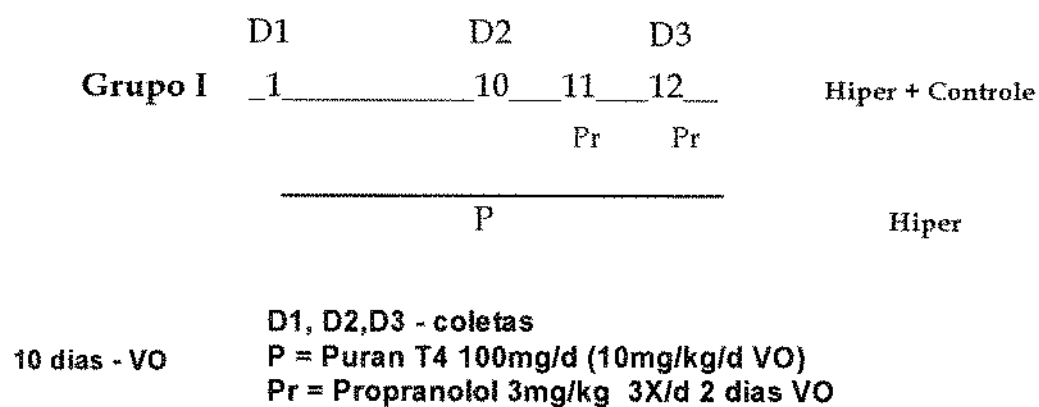
D1=Dia 1 - pré uso de puran T4

D2=Dia 30 - pós uso de puran T4 (Vide esquema 4)

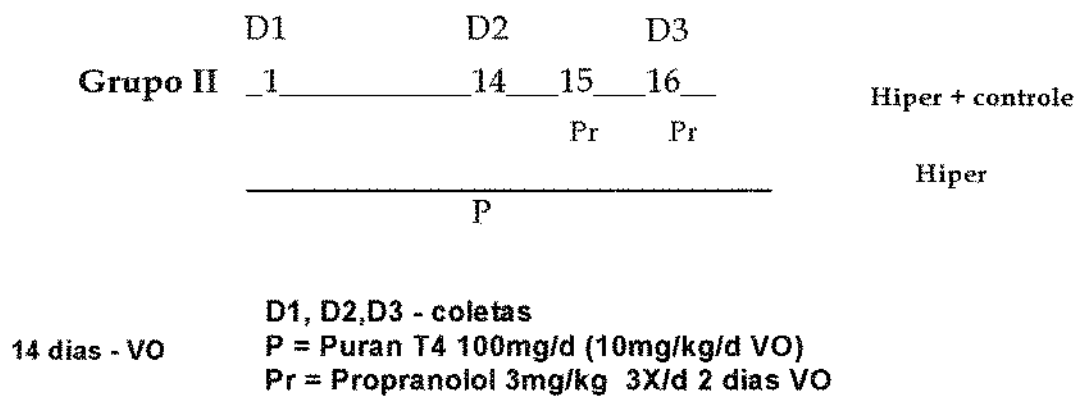
D3=Dia 32 - pós uso de puran T4 + propranolol

Os esquemas 1, 2, 3 e 4 das duas páginas a seguir ilustram o procedimento nos quatro grupos de cães.

Esquema 1



Esquema 2



Esquema 3

	D1	D2	D3	
Grupo III	<u>1</u>	<u>30</u>	<u>31</u>	<u>32</u>
		Pr	Pr	
		P		

30 dias - VO D1, D2,D3 - coletas
P = Puran T4 100mg/d (10mg/kg/d VO)
Pr = Propranolol 3mg/kg 3X/d 2 dias VO

Esquema 4

Padronização Indução do Hipertireoidismo por via subcutânea

Grupo IV	D1	D2	D3	
1		14	15	Hiper + controle
		Pr	Pr	
				T3 (Hiper)
				SF 0.9% controle

14 dias SC

6. *Análise Estatística*

Pelo pequeno número de amostras, apenas o grupo de cães hipertireoideos, induzidos por 14 dias pode ser analisado estatisticamente, através do teste t para amostras pareadas, sendo o nível de significância (α) igual a 5%.

Utilizou-se o teste t do programa "SAS"- Statistical Analysis System, para amostras pareadas.

Nos demais grupos, através da análise descritiva dos dados pode-se observar as médias de cada grupo, e as variações destas em cada instante.

Resultados

Estudo em Ratos

Apesar dos problemas já citados com as amostras dos ratos, notamos menor ganho ponderal nos ratos hipertireoideos, alterações texturais da pele, aumento do volume urinário e maior número de evacuações, quando comparados ao grupo controle. Apenas em um grupo foi possível a dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand, conforme mostra tabela abaixo. Porém nos outros dois grupos em que as coletas foram adequadas, não conseguimos reproduzir as dosagens dos fatores VIII e de von Willebrand. Os valores obtidos mostraram níveis mais elevados destes fatores nos ratos hipertireoideos em relação aos controles.

Ratos	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Diferença de pesos	TTPA (min/seg)	TP/AP (min/seg)	TT (min/seg)	VIII (%)	vW (%)
Hiper	257	263	6	22.8	11.5	75.3	70	106.2
Hiper	312	317	5	17.9	14.1	45.7	85.5	87.5
Hiper	325	327	2	19.7	15.2	51.1	72.2	75
Hiper	231	238	7	19	11.4	55.4	111	75
Hiper	256	263	7	19	10.4	50.3	61.4	-
Hiper	253	264	11	27.4	12.6	45.7	189	111
Controle	362	355	29	19.9	11.9	41	54.7	100
Controle	342	367	29	17.6	14.1	30.7	59.2	62.5
Controle	245	268	23	23.6	12	67.2	56.9	75
Controle	253	295	42	20.4	13.2	-	92.2	122.2

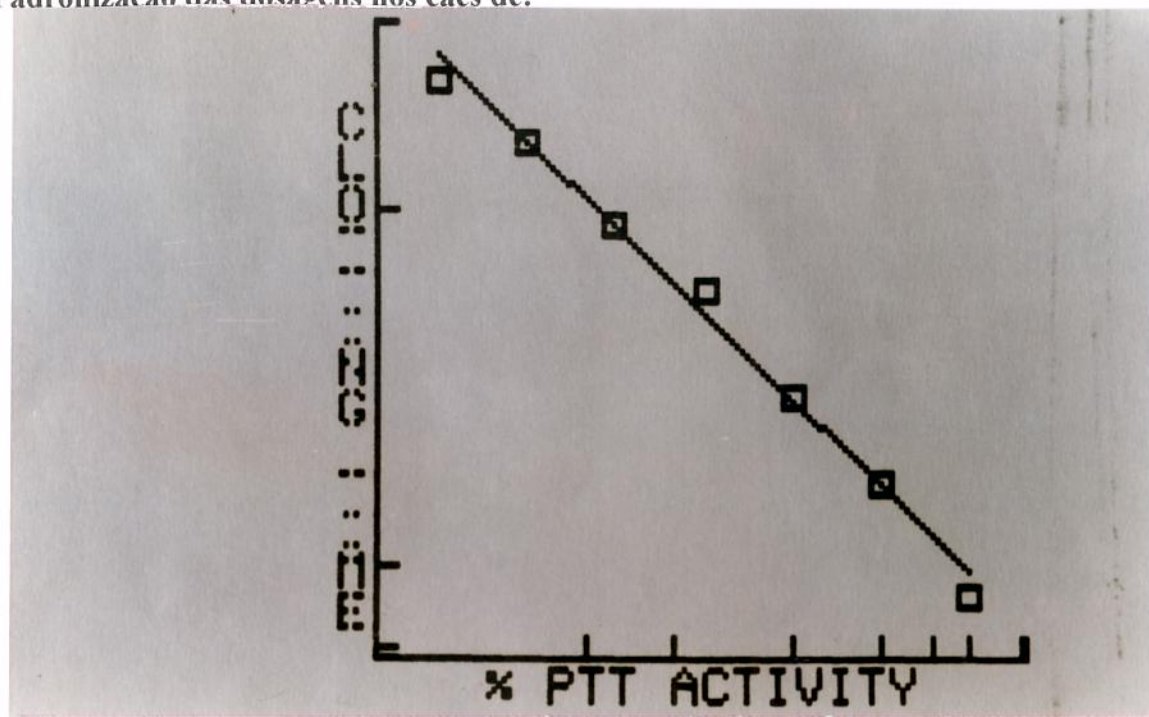
Observação:

Uma vez que decidimos mudar o modelo experimental para cães, não dosamos o T3 e T4 nos ratos para confirmar o hipertireoidismo.

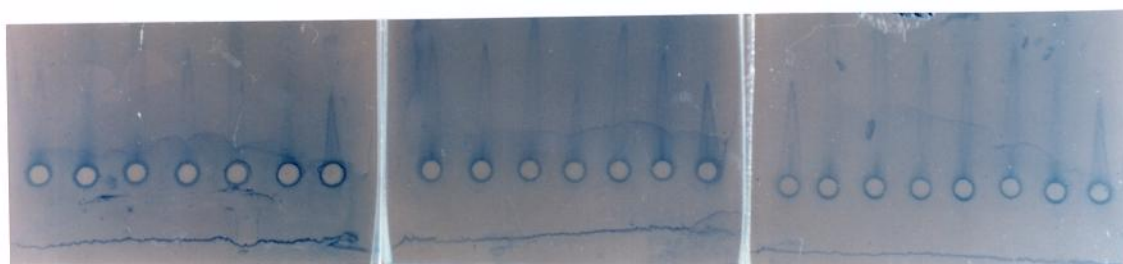
Estudo em Cães

A. Inicialmente coletamos amostras de sangue dos cães para avaliarmos a possibilidade de dosagem dos fatores VIII e von Willebrand nesses animais, com os métodos utilizados em nosso laboratório para dosagens em humanos. Como mostra o anexo 26 foi possível essa dosagem, apesar dos valores se mostrarem muito superiores. Isto pode ser explicado pelo fato da curva padrão ter sido realizada com um pool de plasmas humanos ou pelo fato da cirurgia prévia.

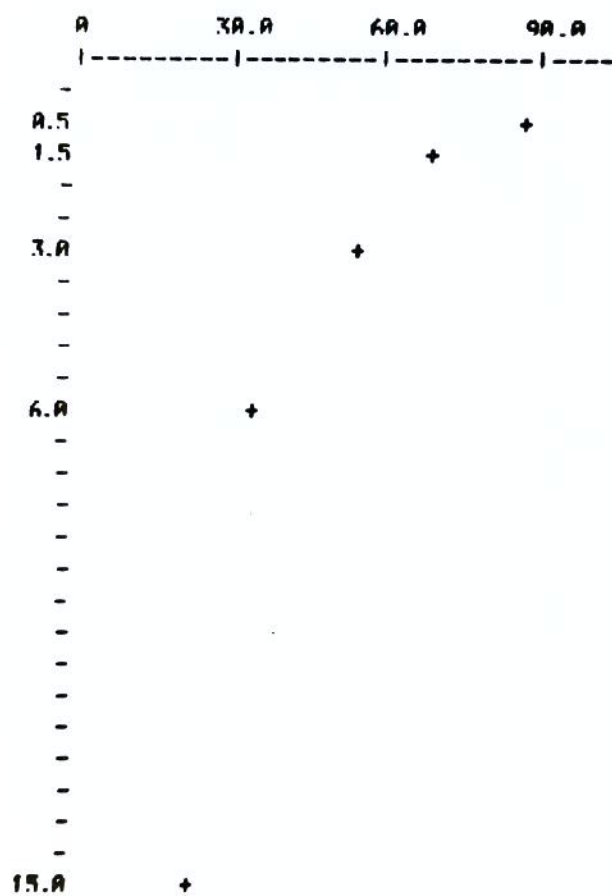
B. Padronização das dosagens nos cães de:



Curva Padrao do Fator VIII

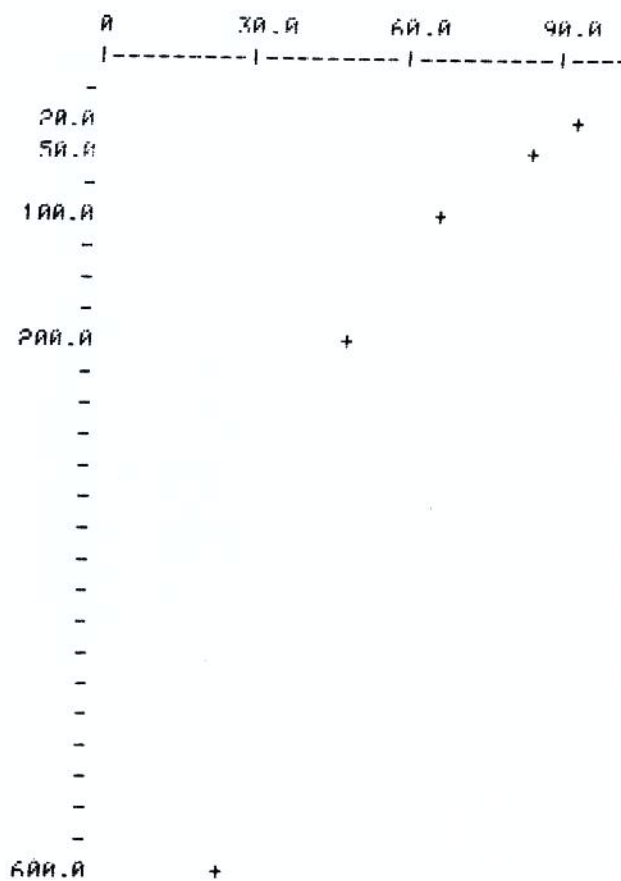


Fator de von Willebrand - Imunoeletroforese em Rocket



Curva Padrão do T4

Curva Padrão do T3



Grupo I - O primeiro grupo de 4 cães foi induzido com Puran T4 via oral, por 10 dias e administrou-se propranolol nos dias D11 e D12. Os níveis de fator VIII e de von Willebrand após o uso de puran T4 por 10 dias, caíram ou ficaram iguais tanto nos controles quanto nos "hipertireoídeos". Não houve alteração nos níveis de fator VIII e de von Willebrand após o uso do propranolol. ANEXO 28.

- Induzimos o segundo grupo de cães (12 cães) por 10 dias e nos dias D11 e D12, administramos o propranolol. Deste grupo só temos as dosagens do fator VIII, cujos valores apresentaram discreta elevação após o puran T4 e se mantiveram após a utilização do propranolol. Vide ANEXO 29. Decidimos aumentar o tempo de indução para 14 dias, mesmo sem dosar os níveis de T3 e T4.

Grupo II e III - Induzimos um grupo de 10 cães (6 hiper e 4 controles), por 14 dias; e um grupo de 6 cães (4 hiper e 2 controles) por 30 dias. Desses grupos foram dosados além dos fatores VIII e vW, o T3 e T4. Os resultados obtidos estão nos anexos 30 e 31. As análises dos resultados estão descritas a seguir.

Análise dos resultados - Indução 14 dias VO

Grupo hipertireoideo - Indução 14 dias - VO

N = 6	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3-2
Média VIII	117 ±36	135 ±72	139 ±56	18.3	3.5
Média vW	90 ±10	103 ±12	104 ±20	4.13	2.5
Média T3	32 ±22	50.8 ±23	50.1 ±23	11.97	7.8
Média T4	1.83 ±0.49	2.8 ±1.4	4.6 ±2.3	1.05	2.61

Grupo controle - Indução 14 dias - VO

N = 4	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3-2
Média VIII	168±49	158±43	197±98	-10	38.7
Média vW	119±15	104±5.1	108±11	-14	3.6
Média T3	28.4±17	21.4±18	36.7±15	-7	15.2
Média T4	1.46±0.15	1.29±0.68	1.81±1.46	0.09	0.52

T4 nl = 0.73 - 2.9 ug/dl

T3 nl = 50 - 180 ug/dl

Apenas o T4 apresentou elevação dos seus níveis acima do normal. Nem o T3, nem os fatores VIII e vW apresentaram alterações significativas nos seus valores.

Análise Indução VO 30 dias

Grupo hipertireoideo - Indução 30 dias -

N = 4	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3-2
Média VIII	66.8	71.01	74.8	4.1	18.5
Média T3	41.7	49.5	78	7.8	-5
Média T4	1.18	2.95	5.8	1.7	0.28

Grupo controle - Indução 30 dias - VO

N = 2	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3-2
Média VIII	79.2	81,5	100	2.3	3.8
Média T3	20.7	27	22	6.2	28.5
Média T4	0.63	0.90	1.18	0.27	2.8

T4 nl = 0.73 - 2.9 ug/dl

T3 nl = 50 - 180 ug/dl

Os cães induzidos por 30 dias apresentaram aumento ainda maior dos níveis de T4, porém, o T3, o fator VIII e o fator de von Willebrand pouco se alteraram.

Grupo IV - Do grupo de oito cães, onde 05 receberam o T3 via subcutânea e 03 receberam injeções de soro fisiológico também subcutâneas, por 14 dias. Dosamos os níveis de T3, Fator VIII e fator de von Willebrand. Além disso, avaliamos o ganho ponderal e a frequência cardíaca. Os resultados obtidos estão descrito no ANEXO 31 e a análise das médias estão relacionadas abaixo

Sinais Clínicos

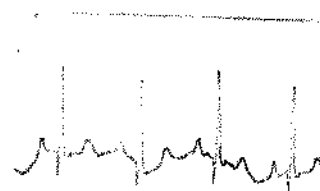
Grupo hipertireoideo - Indução 14 dias - SC

N = 5	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3 - 2
Média Peso	12.1	9.9	9.3	-2.1	-6.4
Média FC	152	228	198	75	-29

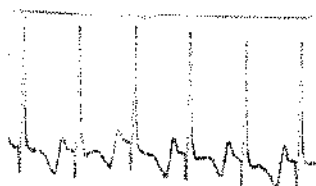
Grupo controle - Indução 14 dias - SC

N = 3	D1	D2	D3	D2-1	D 3-2
Média Peso	11.7	11.7	10.9	0	-0.8
Média FC	97	146	99	48	-46

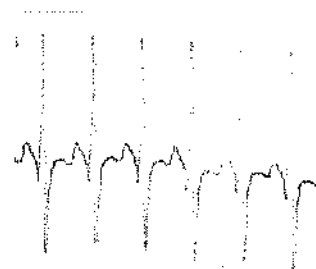
Eletrocardiogramas



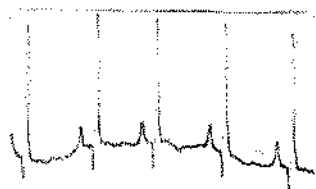
Cão 1 D1 FC=150 bpm



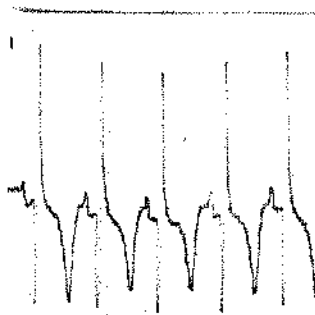
Cão 1 D13 FC=214 bpm



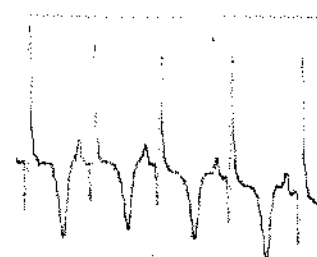
Cão1 D15 FC=250 bpm



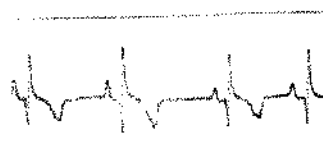
Cão 2 D1 FC=176 bpm



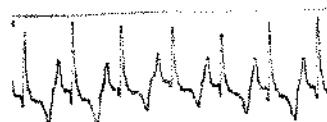
Cão 2 D13 FC=187



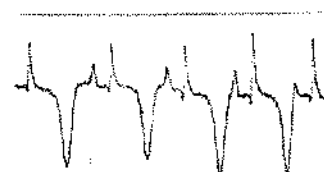
Cão 2 D15 FC=166



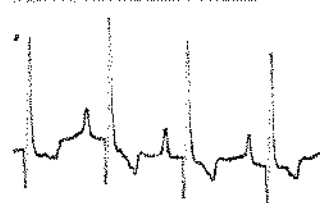
Cão 3 D1 FC=115 bpm



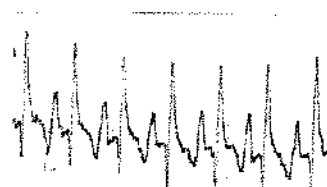
Cão 3 D13 FC=240 bpm



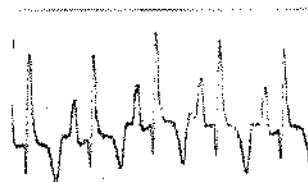
Cão3 D15 FC=187 bpm



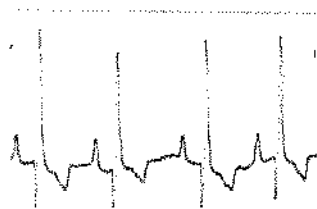
Cão 4 D1 FC=136 bpm



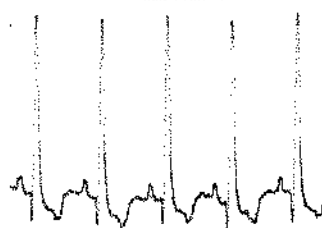
Cão 4 D13 FC=250 bpm



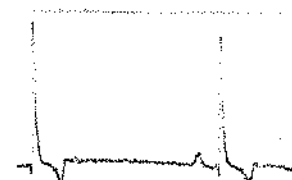
Cão 4 D15 FC=176 bpm



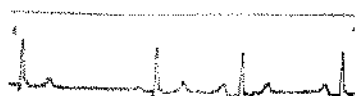
Cão 5 D1 FC



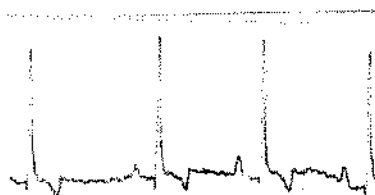
Cão 5 D13 FC=187 bpm



Cão 5 D13 FC=115 bpm



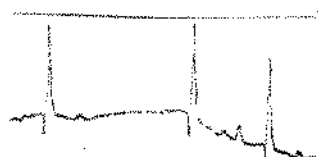
Cão 6 D1 FC= 85 bpm



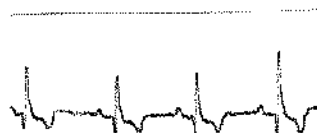
Cão 6 D13 FC=115 bpm



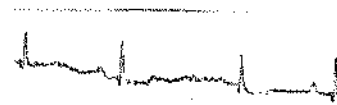
Cão 6 D15 FC=83



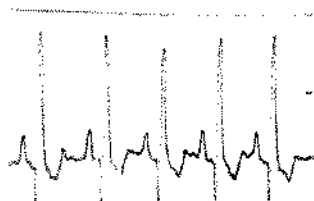
Cão 7 D1 FC=78 bpm



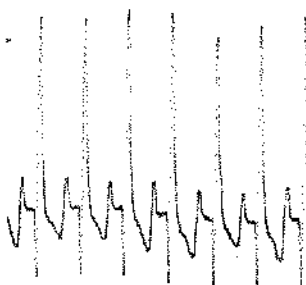
Cão 7 D15 FC=136 bpm



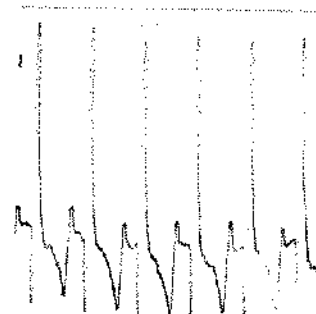
Cão 7 D13 FC=100 bpm



Cão 8 D1 FC=187 bpm



Cão 8 D13 FC=250



Cão 8 D15 FC=214 bpm

OBS: Cães n° 1, 2, 3, 4 e 8 - Hiper tireoidismo

Cães n° 5, 6 e 7 - Controles

Análise dos resultados - Indução SC 14 dias - comparação das médias das diferenças

Grupo hipertireoideo - Indução 14 dias -

N = 4/5	D1	D2	D3	D 2 - 1	D 3 - 2
Média VIII	88±33	112±16	69±18	23±43	-42±15
Média vW	114±11	119±31	129±42	18±5.9	9.3±17
Média T3	327±244	591±19	600	264±255	8.6±19

Grupo controle - Indução 14 dias - SC

N = 2/3	D1	D2	D3	D2-1	D 3-2
Média VIII	103±35	118±51	113±40	22±4.2	2±2.8
Média vW	107±3.8	139±33	93±17	32±35	-46±30
Média T3	262±296	52±27	64±28	-210±322	11±11

T4 nl = 0.73 - 2.9 ug/dl

T3 nl = 50 - 180 ug/dl

Análise Indução SC 14 dias - após divisão dos cães em dois grupos

VIII 1	VIII 2	VIII 3	vW 1	vW 2	vW 3
	Hiper n=5	Hiper n=5		Hiper n=5	Hiper n=5
Todos n=8	112,3 ± 16,7	79,8 ± 18,8	Todos n=8	158,2 ± 11,6	154,6 ± 13,7
94,3 ± 32,8	Cont. n=3	Cont. n=3	170,6 ± 15,6	Cont. n=3	Cont. n=3
	155,3 ± 73,5	113,3 ± 40,4		158 ± 8	158 ± 8

Peso 1	Peso 2	Peso 3	T3/1	T3/2	T3/3
	Hiper n=5	Hiper n=5		Hiper n=5	Hiper n=5
Todos n=8	9,9 ± 0,4	9,3 ± 0,6	Todos n=5	591,4 ± 19	600 ± 0
11,9 ± 1,1	Cont. n=3	Cont. n=3	133 ± 37	Cont. n=3	Cont. n=3
(kg)	11,7 ± 0,4	10,9 ± 1		52,7 ± 27	64 ± 28

*Análise dos níveis dos fatores **VIII**, de von
Willebrand e do **T3** em cães normais.*

Uma vez que poucos são os trabalhos na literatura que avaliaram os níveis de fator VIII e de von Willebrand em cães, decidimos por analisar os valores encontrados nos cães normais de T3, T4, fator VIII e de von Willebrand.

Tabela com Valores de T3, T4, Fator VIII e von Willebrand em Cães Normais

Fator VIII	Fator von Willebrand	T3	T4
115	142	20.4	1.61
119	109	51.2	1.31
135	110	30.8	1.46
127	115	11.2	2.15
138	87	16.8	1.08
41.5	98	28	2.49
97.3	98	49.5	1.67
43	100	63.9	1.97
92	119	37	1.6
129	92	54	1.7
118	175	28	0.8
132	184	68	1.15
220	166	16.8	1.06
200	200	21.5	0.51
140	166	20	0.75
115	158	42.7	
82	150	146.1	
130	166	131.6	
155		287.8	
160		58.5	
78		53.7	
100			
101.9			
91.4			
68.5			
63			
118			
130			
134			
91			
44.5			
104			
70			

Médias e desvios padrões do T3, T4, Fator VIII e Fator de von Willebrand

	Fator VIII	Fator von Willebrand	T3	T4
Média/ Desvio Padrão	111,61 ± 40,28	135,28 ± 35,96	47,49 ± 35,72	1.42 ± 0,55
nº	33	18	20	15

Conclusões do Estudo Experimental

- Com o aumento do tempo de indução tivemos um aumento progressivo dos níveis de T4. Porém estes níveis não foram suficientes para levar a um aumento do T3 e dos fatores VIII e de von Willebrand. Talvez com um período ainda maior de indução pudessemos chegar ao hipertireoidismo.
- Apesar do tempo prolongado de indução via oral, julgamos válida a tentativa com puran T4 sendo administrado junto a alimentação, visto que é uma forma fácil de ser realizada em qualquer lugar, por uma só pessoa. Além disso, não havia na literatura, trabalhos anteriores com indução por via oral, pois esta sempre foi realizada através de injeções subcutâneas ou endovenosas.
- Mesmo atingindo níveis de T4 acima do normal, não tivemos alterações significativas nos níveis dos fatores VIII e de von Willebrand, o que era de se esperar uma vez que a porção ativa dos hormônios tireoidianos é o T3.
- Não conseguimos padronizar a dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand nos ratos;
- Não conseguimos induzir o hipertireoidismo nos cães, mesmo aumentando o tempo de indução de 10 para 14 e para 30 dias, decidiu-se por induzir um novo grupo de cães, de acordo com modelos experimentais já descritos na literatura (Avgeris e Cols, 1990; Hoey e Cols, 1991; Crozatie e Cols, 1991; Panciera e Cols, 1992; Sernia e Cols, 1993), onde utiliza-se triiodotironina 1mg/Kg/dia SC ou L-tiroxina 03 a 10 mg/Kg/dia por 10 dias IV , para depois analisarmos a correlação dos níveis de hormônio tireoidiano, achados clínicos de hipertireoidismo e níveis de fatores VIII e de von Willebrand e o efeito dos beta bloqueadores nessa relação.

- Após a indução endovenosa com triiodotironina 1mg/kg/dia SC, por 14 dias, finalmente obtivemos o hipertireoidismo nos cães, confirmado tanto clínica quanto laboratorialmente.
- Os cães apresentaram perda de peso significativa vide tabela 7, diarreia aquosa e aumento da frequência cardíaca ao eletrocardiograma vide páginas 121 e 122.
- Os níveis de T3 dos cães hipertireoideos ficaram acima de 600 ug/dl, confirmando o hipertireoidismo laboratorial, o que não ocorreu com os cães controles vide tabela 7.
- O fator VIII apresentou aumento dos seus níveis nos cães hipertireoideos após a indução com triiodotironina e queda após o uso do propranolol, não correlacionado com queda dos níveis de T3, o que sugere uma ação direta do β bloqueador sobre a síntese do fator VIII, independente do hormônio tireoidiano.
- Os níveis de fator de von Willebrand aumentaram após a indução com o T3, porém não apresentou queda após o uso do β bloqueador, sugerindo talvez ação direta do T3 sobre o von Willebrand.

Discussão dos resultados do estudo experimental

A primeira etapa da fase experimental deste estudo consistiu na padronização da dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand em um modelo experimental. O primeiro modelo escolhido foi constituído por ratos Wistar Rannover, contudo, não conseguimos padronizar a dosagem dos fatores VIII e de von Willebrand nestes animais e portanto mudamos o modelo experimental para cães, nos quais realizamos a padronização das dosagens necessárias.

Uma vez que poucos estudos na literatura avaliaram os níveis de fator VIII e fator de von Willebrand em cães, analisamos os valores encontrados nos cães normais, com as respectivas médias e desvios padrões; além de analisarmos os níveis de T3 e T4. É importante salientar que todas as curvas padrões, como o padrão da imunoeletroforese foram constituídos por um pool de 06 a 08 cães normais, uma vez que esses fatores podem variar com as espécies animais.

Na segunda etapa iniciamos a indução do hipertireoidismo. Como demonstram nossos resultados, não conseguimos induzir o hipertireoidismo nos cães por via oral, mesmo aumentando o tempo de indução de 10 para 14 e para 30 dias. Com o aumento do tempo de indução tivemos um aumento progressivo dos níveis de T4. Porém estes níveis não foram suficientes para levar a um aumento do T3. Mesmo atingindo níveis de T4 acima do normal, não tivemos alterações significativas nos níveis dos fatores VIII e de von Willebrand, o que era de se esperar uma vez que a porção ativa dos hormônios tireoidianos é o T3. Apesar do tempo prolongado de indução via oral, julgamos válida a tentativa de utilizar o puran T4 junto a alimentação, visto que é uma forma fácil de ser realizada em qualquer lugar, por uma só pessoa. Além disso, não havia na literatura, trabalhos anteriores com indução por via oral, pois esta sempre foi realizada através de injeções subcutâneas ou endovenosas.

Diante do descrito anteriormente, decidiu-se por induzir um novo grupo de cães, de acordo com modelos experimentais já descritos na literatura (Avgeris e Cols, 1990; Hoey e Cols, 1991;

Crozati e Cols, 1991; Panciera e Cols, 1992; Sernia e Cols, 1993), onde se utiliza triiodotironina 1mg/Kg/dia SC ou L-tiroxina 03 a 10 mg/Kg/dia por 10 dias IV.

Após a indução com triiodotironina 1mg kg dia SC, por 14 dias, finalmente obtivemos o hipertireoidismo nos cães, confirmado tanto clínica quanto laboratorialmente.

Os cães apresentaram perda de peso significativa, diarreia aquosa e aumento da frequência cardíaca ao eletrocardiograma, confirmando o hipertireoidismo clinicamente.

Houve um aumento nos níveis de T3 no grupo de cães hipertireoideos, acima de 180µg/dl (limite superior da normalidade), o que não aconteceu no grupo controle. Este resultado confirmou laboratorialmente o diagnóstico de hipertireoidismo .

O fator VIII apresentou aumento dos seus níveis nos cães hipertireoideos após a indução com triiodotironina e queda após o uso do propranolol, não correlacionado com queda dos níveis de T3. Isto sugere que a via β adrenérgica está envolvida no mecanismo de aumento do fator VIII no hipertireoidismo.

Os níveis de fator de von Willebrand aumentaram após a indução com o T3, porém não houve queda após o uso do β bloqueador, sugerindo talvez uma ação direta do T3 sobre o fator de von Willebrand.

Pensando-se na hipótese de uma ação celular direta do T3, interferindo na liberação ou síntese do fator de von Willebrand, independente da via β adrenérgica, poderíamos imaginar uma possível perspectiva terapêutica da Doença de von Willebrand (onde 1% a 3% da população é portadora).

Referências Bibliográficas

Fase Clínica

- Andrew M, Manno M, Karpatkin M (1983) Demonstration of kallikrein-like proteases activity in nonactivated plasma of patients with Cooley's anemia. *Blood*, 61(2) : 232-237.
- Bennett, N.B., Ogston, C.M., McAndrew, G.M. (1967) The thyroid and fibrinolysis. *Br Med J*; (IV):147.
- Bilezikian, J.D., Laeb, J.N. (1983). The influence of hyperthyroism and hypothyroidism on alpha and beta adrenergic receptor systems and adrenergic responsiveness. *Endocrine Rev*; 4: 378 - 388.
- Biggs, R. (1975). *Coagulation Sanguínea, Hemostasia Y Trombosis*. Ed JIMS, Barcelona.
- Blesing, N.E., Hambley, H., McDonald, G.A. (1990). Acquired von Willebrand's disease and hypothyroidism: report of a case presentig with menorrhagia. *Postgrad Med J*; 66: 474 - 476.
- Bloom A. L. (1990). Physiology of Blood Coagulation. *Haemostasis*; 20 (Supl 1): 14-29.
- Britton, B., Wood, W.G., Smith, M., Hawrey, C., Irving, M.H. (1976) The effect of beta adrenergic blockade uon exercise - induced changes in blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemostas*; 35: 396 - 402.
- Carvalho, A.C., Colman, R.W. and Lees, R.S. (1974). Platelet function in hyperlipoproteinemia. *New England Journal of Medicine*; 290, 434.
- Chawla RK, Rausch DJ, Miller FW, Vogler WR, Lawson DH (1984). Abnormal profile of serum proteinase inhibitors in cancer patients. *Cancer Res*, 44: 2718-2723.
- Colman, R.W., Wong, P.Y. (1977). Participation of Hageman factor dependent pathways in human disease states. *Thromb Haemost*; 38, 751.

- Cooper EH, Stone J (1979). Acute phase reactant proteins in cancer. Adv in Cancer Research, 30 : 1-44.
- Comp, P.C. (1990). Control of coagulation reaction. In: Williams J.W.; Bentler, E.; Erlev, A.J.; Lichtman, M.A. Hematology 14a ed. New York, MacGran Hill v.1: 1304-1311.
- Corsio, F.G., harker, C., Batard, M.A., Brandt, J.T., & Griffin J.H.(1985). Plasma concentration of the natural anticoagulants protein C and protein S in patients with proteinuria. J.Lab. Clin. Med; 106(2): 218-222.
- Cort JH, Fischman AJ, Dodds WS, Rand JH, Schwartz IL (1981). New category of vasopressin receptor mediates the release of a humoral factor VIII-mobilizing principle. Int Peptide Prot Res 17: 14-22.
- Dalton, R.G., Dewar,M.S., Savidge, G.F., Kernoff, P.B.A., Matheus, K.B., Greaves, M., preston, F.E. (1987). Hypothyroidism as a cause of acquired von Willebrand's disease. Lancet II (i): 1007-1009.
- Duquert, F., Fluckiger, P., Isenshmid, H., Matter, H., Vogel-Meng J., Killer, F.. (1954). A modification of the tromboplastin generation test. Acta Haematol. (Basel); 12: 197.
- Edson JR, Fecher DR, Doe RP (1975). Low platelet adhesiveness and other hemostatic abnormalities in hipothyroidism. Ann Int Med, 82: 342-46.
- Egberg, B.O. (1963). Influence of thyroid function on the blood clotting system. Scand J Clin Lab Invest; 15: 1-7.

- Farid, N.R., Griffiths, B.L., Collins, J.R., Marshall, W.H., Ingram, D.W. (1976). Blood coagulation and fibrinolysis in thyroid disease. *Thromb Haemost*; 35: 415-22.
- Francis, C.W. & Marder, U.J. (1984). Mechanisms of fibrinolysis. In: Williams J.W.; Bentler, E.; Erlev, A.J.; Lichtman, M.A. *Hematology* 14a ed. New York, MacGran Hill v.1: 1313-1321.
- Griffin, J.H., Evatt, B., Zimmerman, T.S., Kleiss, A.J., Wideman, C. (1981). Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. *J.Clin. Invest*; 68: 1370-1373.
- Hashimoto, K., Warka, J., Kohn, R. N., Wilkens, H. J., Steger, R. and Back, N. (1975): The vasoactive kinin system in acute clinical cardiac disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*; 70, 245.
- Henschen, A.H. (1993). Human fibrinogen-structural variants and functional sites. *Thromb. Haemost*; 70(1): 42-47.
- Hessel, L.W., Kluft, C. (1986). Advances in clinical fibrinolysis. *Clin Hematol*; 15 (2): 443.
- Hinsberg, B.W.M. van, Kooistra, T., Berg, E.A. van, Pricen, H.M.G., Fiers, W., Emeis, J.J. (1988). Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. *Blood*; 72(5): 1467-1473.
- Hoogendoorn, H., Toh, C. H., Nesheim, M. E. and Giles, A. R. (1991): Alpha 2 macroglobulin Binds and Inhibits Activated Protein C. *Blood*; 78, No 9, 2283.
- Hume, R. (1965). Fibrinolytic activity and thyroid function. *Br Med J*; I: 686.
- Iwanaga, S. (1993). Primitive coagulation systems and their message to modern biology. *Thromb. Haemost*; 70(1): 48-55.

- Jhuan-Vague, I., Moerman, B., De Cock, F., Aillaud, M.F., Collen, D. (1984). Plasma levels of a specific inhibitor of tissue-type plasminogen activator (and urokinase) in normal and pathological conditions. *Thromb. Res*; 33: 523-530.
- Juliano, M.A., Juliano, L. (1985). *Braz J Med Biol Res*; 18: 435 - 445.
- Landsberg, L. (1977). Catecholamine and hyperthyroism. *Clin Endocrinol Metab*; 6: 697 - 718.
- Laurell, C.B. (1966). *An Biochem*. Quantitative estimation of proteins by eletroforesis in agarose gel containing antibodies; 15 : 45 - 52.
- Loeb, J. N.a (1989). *The Thyroid: A fundamental and Clinical Text (Werner's)*; Chapter 51, 1208.
- Loeb, J.N.b (1989). *The Thyroid : A Fundamental and Clinical Text (Werner's)*; Chapter 40, 949.
- Longbin, L, Xiangbin, W., Zhusan, L, Hanwen, W. (1993). Elevated plasma levels of vWf : Ag in hyperthyroidism are mediated through beta - adrenergic receptors. *Endocrine Reseach*; 19 (2&3): 123 - 133.
- Loskutoff, D.J., Sawdey, M.K., Schneiderman, j. (1993). Regulation of PAI-1 gene expression in vivo. *Thromb. Haemost*; 70 (1): 135-137.
- Mac Callum, P.K., Rodgers, M., Taberner, D.A. (1987). Hypothyroidism and von Willebrand 's disease. *Lancet*; (II) 1: 1314.
- Mannucci, P.M. e Vinganò,S. (1982). Deficiencies of proteein C, an inhibitor of blood coagulation. *Lancet*; 28: 463 - 466.

- Marongiu, F., Conti, M., Mameli, G., Murtas, M.L., Balzano, S., Sorano, G., Manussa, A.M.,
Marinho, E. (1988). Fibrinogen and fibrinolytic activity in hiperthyroidism before and after
antithyroid treatment. J Endocrinol Invest; 11: 723-725.
- Mckenzie, J. M. and Zakarija, M. (1989): Hyperthyroidism. Endocrinology - Degroot; Chapter
43, 646.
- Meyer, D. e Girma, J.P. (1993). Von Willebrand factor: Structure and function. Thromb Haemost;
70 (1): 99 - 104.
- Miller, D.H., Margolius, H.S. (1989). Kallikrein - Kininogen - Kinin Systems. Endocrinology -
Degroot; Chapter 151, 2491-2503.
- Movat, H.Z., Belorenzo, N.L., Mustard, J.F., Helmelt, G. (1966). Activation of Hageman factor
and vascular permeability factor in serum by A-AB precipitates. Fed Proc; 25: 682-693.
- Nuijens, J.H., Huijbregts, C.C.M., Cohen, M., Navis, G.O., de Vries, A., Eeremberg, A.J.M.,
Bakker, J.C. e Hack, C.E. (1987). Detection of activation of the contact system of
coagulation in vitro and in vivo: quantification of activated Hageman factor, C1 inhibitor and
Kallikrein - C1 - inhibitor complexes by specific radioimmunoassays. Thromb Haemost; 58
(2): 778 - 785.
- Ogston, D., Bennett, B. (1978). Surface-mediated reactions in the formation of thrombin, plasmin
and kallikrein. Br Med Bull; 34: 107.
- Oliveira, P.D., Oliveira, M.G., Pina, F., Andrade, J.A., Cabral, J.M.P.(1991). Proteins C and S in
patients with advanced prostatic cancer. Thrombosis Research. 63: 195 - 200.

- Pitt, B., Mason, J. and Conti, C. R. (1969): Observation on the plasma kallikrein system during myocardial ischemia. Transactions of Association of American Physicians; 82, 98.
- Proctor, P.R., Rapaport, S.I. (1961). The partial thromboplastin time with kaolin; A simple screening test for first stage plasma clotting factor deficiencies. Am. Clin. Pathol.; 36: 212.
- Quick, A.J. (1935). The prothrombin in Hemophilia and in obstructive jaundice. J. Biol. Chem.; 109: LXXII.
- Ratnoff, O.D., Menzie, C. (1951). A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma. J Lab Med; 37: 316 - 320.
- Rennie, J.A.N., Bewsher, P.D., Murchison, L.E., Ogston, D. (1978). Coagulation and fibrinolysis in thyroid disease. Acta Haematol; 59 : 171-177.
- Rogers, J.S., Shane, S.R., Jencks, F.S. (1982). Factor VIII activity and thyroid function. Ann Int Med; 97: 713-716.
- Rogers II, J.S., Shane, S.R. (1983). Factor VIII activity in normal volunteers receiving oral thyroid hormone. J Lab Clin Med; 102: 1449 - 1455.
- Roise, O., Sivertsen, S., Ruud, T. E., Bouma, B. N. and Stadaas, J. O. (1990): Studies on Components of the Contact Phase System in Patients With Advanced Gastrointestinal. Cancer, 65, 1355.
- Saito, H. (1991). Normal Hemostatic Mechanisms. Disorders of Hemostasis . Second Edition; 18: 48.

- Schapira, M. (1987). Major inhibitors of the contact phase coagulation factors. *Sem Thromb Hemost*; 13 (1): 69-71.
- Simone, J.V., Abildgaard, C.F., Schulman, I. (1965). Blood coagulation in thyroid dysfunction. *N Engl J Med*; 273: 1057 - 1061.
- Soulier, J.P., Gozin, D. (1984). Present knowledge on contact factors. Theoretical and practical aspects. *Blood Transf Immunohaematol*; 27 (6): 785.
- Swith, S.R., Auger, M.J. (1987). Hypothyroidism and von Willebrand 's disease. *Lancet*; (II) 1: 1314.
- Takahashi, H., Yamada, M., Shibata, A. (1987). Acquired von Willebrand's disease in hypothyroidism. *Thromb Haemostas*; 58: 1095.
- Thorton, J.G., Parapia, L.A., Minfort, A.M.B.(1987). Hypothyroidism and von Willeband's disease. *Lancet* (II); 1: 1314.
- Travis, J., Salvensen, G.S. (1983). Human plasma protein inhibitors. *Annu Rev Biochem*; 52 : 655.
- Utiger, R. D. (1989): Hypothyroidism. *Endocrinology*; Chapter 45, 702.
- Vigano, S., Mannucci, P.M., D'angelo, A., Gelfi, C., Gensini, G.F., Rostagno, C., Serner, G.G.N. (1984). Protein C Antigen Is not an Acute Phase Reactant and is often High in Ischemic Heart Disease and Diabetes. *Thromb Haemosas*; 52 (3): 263 -266.
- Walker, F.J. e Fay, P.J. (1992). Regulation of blood coagulation by protein C system. *FASEB J*; 6: 1561 - 2567.

Wong, P. Y., Colman, R.W., Talamo, R. C. and Barbior, B.M. (1972). Kallikrein-bradykinin system in chronic alcoholic liver disease. *Annals Internal Medicine*; 77, 205.

Referências Bibliográficas
Fase Experimental

- Andriuoli, G., Mastacchi, R., Barbanti, M., Sarret, M. (1985). Comparson of the antitrombotic and haemorrhagic effects of heparin and a new low molecular weight heparin in rats. *Haemostasis*; 15: 324-330.
- Avgeris, S., Lothrop, C.D.Jr., Mc Donald, T. P.(1990). Plasma von Willebrand factor concentration and thyroid function in dogs. *J - Am - Vet - Med - Assoc*; Mar 15; 196 (6): 921-4.
- Bennett, N.B., Ogston, C.M., McAndrew, G.M. (1987). The thyroid and fibrinolysis. *Br. Med J*: (IV): 147.
- Bilezikian, J.D., Laeb, J.N. (1983). The influence of hyperthyroidism and hypothyroidism on alpha and beta adrenergic receptor systems and adrenergic responsiveness. *Endocrine Rev*; 4: 378-388.
- Bloom, J.C., Sellers, T.S., Gries, G.C., Wheeldon, E.B., O'Brien, S.R., Lewis, H.B. (1988). The effet of human recombinant tissue-type plasminogen activator on clinical and laboratory parameters of haemostasis and systemic plasminogen activation in dog and rat. *Thrombosis and Haemostasis (Stuttgart)*; 60 (2): 271-279.
- Britton, B., Wood, W.G., Smith, M., Hawrey, C., Irving, M.H. (1976). The effect of beta adrenergic blockade upon exercise - induced changes in blood coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemostasis*; 35: 396-402.
- Crozatier, B., Su, J.B., Corsin, A., Bouanani, Nel. H. (1991). Species differences in miocardial beta adrenergic receptor regulation in response hyperthyroidism. *Circ Res*; Nov 69; 5: 1234-43.

- Dalton, R.G., Dewar, M.S., Savidge, G.F., Kernoff, P.B.A., Matheus, K.B., Greaves, M., Preston, F.E. (1987). Hypothyroidism as a cause of acquired von Willebrand's disease. *Lancet* II (i): 1007-1009.
- Dejana, E., Furlan, M., Barbieri, B., Donati, M.B., Beck, E.A. (1984). Interactions of purified rat factor VIII / von Willebrand factor with rat and human platelets - effect of albumin and ristocetin. *Thromb Haemostasis* (Stuttgart); 52(!): 57-59.
- Farid, N.R., Griffiths, B.L., Collins, J.R., Marshall, W.H., Ingram, D.W. (1976). Blood coagulation and fibrinolysis in thyroid disease. *Thromb Haemost*; 35: 415 - 422.
- Hoey, A., Page, A., Brown, L., Atwell, R.B. (1991). Cardiac changes in experimental hyperthyroidism in dogs. *Aust - Vet - J*; Nov; 68 (11): 352-5.
- Ingram, G.I.C., Jones, R.B. (1966). The rise in clotting factor VIII induced in man by adrenaline: effect of alpha and beta blockers. *J physiol*; 187: 447-454.
- Johnson, C.A. (1994). Reproductive manifestations of thyroid disease. *Vet - Clin - North - Am - Small - Anim - Pract*; May; 24 (3): 509-514.
- Kienle, R.D., Bruyette, D., Pion, P.D. (1994). Effects of thyroid hormone and thyroid dysfunction on the cardiovascular system. *Vet - Clin - North - Am - Small - Anim - Pract*; May; 24 (3): 495-507.
- Landsberg L. (1977). Catecholamine and hyperthyroidism. *Clin Endocrinol Metab*; 6: 697-718.
- Longbin, L., Xiangbin, W., Zhushan, L., Hanwen, W. (1993). Elevated plasma levels of vWf-Ag in hyperthyroidism are mediated through beta adrenergic receptors. *Endocrine Res*; 19 (2&3): 123-133.

- Owens, M.R., Cimino, C.D. A plasma factor enhances activity of vitamin K dependent coagulation proteins (1983). *Thromb haemostas*; (Stuttgart); 50 (3): 749-752.
- Owens, M.R., Cimino, C.D., Donnelly, J. (1986). Measurements of rat coagulation proteins during prolonged exposure of diethylbesterol. *Thrombosis Research*; 42: 343-354.
- Panciera, D.L., Keene, B.W., Mier, H.C. (1992). administration of levothyroxine to euthyroids dogs does not affect echocardiographic and eletrocardiographic measurements. *Res - Vet - Sci*; jul; 53 (1): 130-132.
- Palaredi, G., Biagi, G., legnani, C., Bianch, D., serra, D., Savin, R., Coccheri, S. (1989). Association of reduced Factor VIII with impaired platelet reactivity to adrenalin and collagen after total thyroidectomy. *Thormb Haemostas*; 62: 1053-1056.
- Prentice,C.R.M., Forbes, C.D., Smith, S.M.(1972). Rise of factor VIII after exercise and adrenaline infusion, measured by immunological and biological techniques. *Thormb Res*; 1: 493-506.
- Rennie, J.A.N., Bewsher, P.D., Murchison, L.E., Ogston, D. (1978). Coagulation and fibrinolysis in thyroid disease. *Acta Haematol*; 59 : 171-177.
- Rogers, J.S., Shane, S.R., Jencks, F.S. (1982). Factor VIII activity and thyroid function. *Ann Int Med*; 97: 713-716.
- Rogers II, J.S., Shane, S.R. (1983). Factor VIII activity in normal volunteers receiving oral thyroid hormone. *J Lab Clin Med*; 102: 1449 - 1455.

- Shaw, E., Giddings, J.C., Peake, I.R., Bloom, A.L.(1979). Synthesis of procoagulant factor VIII, factor VIII related antigen and other coagulation factors by the isolated perfused rat liver. *British Journal of Haematology*; 41: 585-596.
- Sernia, C., Marchand, C., Brown, L., Hoey, A. (1993). Cardiac angiotensin receptors in experimental hyperthyroidism in dogs. *Cardiovasc Res*; Mar; 27(3): 423-428.
- Simone, J.V., Abildgaard, C.F., Schulman, I. (1965). Blood coagulation in thyroid dysfunction. *N Engl J Med*; 273: 1057 - 1061.
- Suga, H., Tanaka, N., Ohgoshi, Y., Saeki, Y., Nakanishi, T., Futaki, S., Yaku, H., Goto, Y. (1991). hyperthyroid dog left ventricle has the same oxygen consumption versus pressure volume area (PVA) relation as euthyroid dog. *Heart - Vessels*; 6(2): 71-83.

Anexos

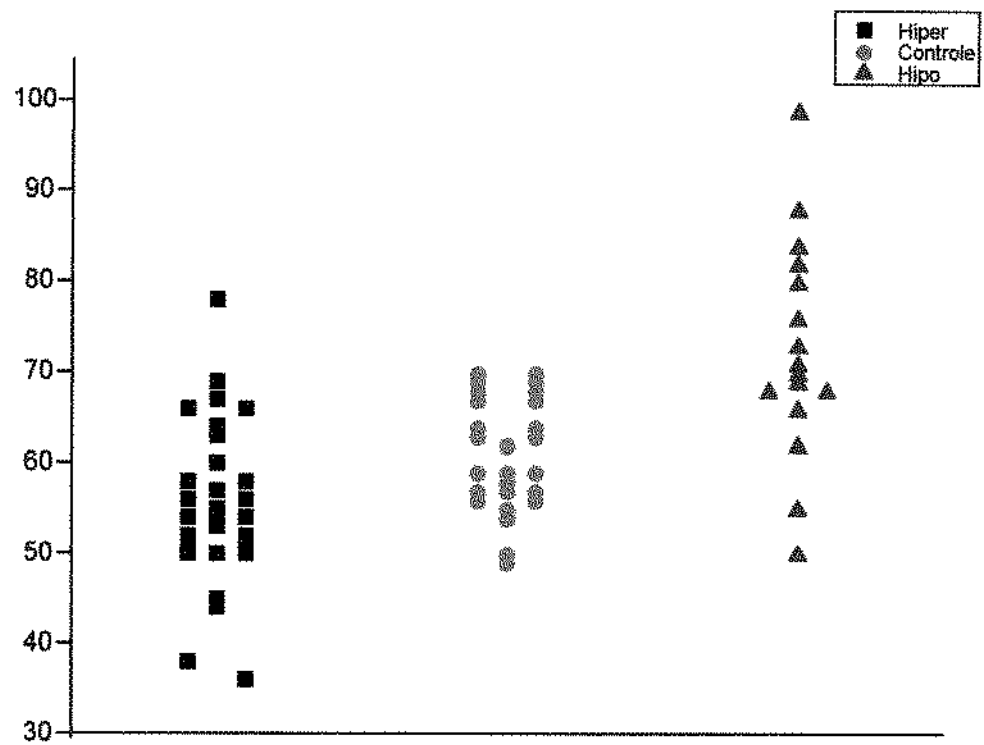
Anexo 1: Identificação

Hipertireoideos		Controles		Hipotireoideos	
Nome	Idade	Número	Idade	Nome	Idade
CFL	50	1	40	AMM	23
MFS	37	2	40	RCS	89
SHLS	21	3	32	MAMM	74
AAM	23	4	27	ABOS	43
MNB	70	5	29	SCC	72
AS	38	6	31	MPSL	53
KRSN	24	7	28	IGO	51
LC	65	8	30	LRF	26
MMS	55	9	29	MOS	32
MO	24	10	29	IAM	41
GMAC	42	11	31	RAK	31
TM	40	12	30	SC	69
TDA	42	13	27	LAL	38
MRM	56	14	21	CPRM	50
MCSB	48	15	28	MOLS	33
MAS	23	16	22	EMB	59
VSS	59	17	32	MRD	40
MMBB	21	18	22	IRC	69
MAS	31	19	37	MEAD	33
MOS	63	20	28	LP	28
LMG	41	21	32		
MAFL	38	22	46		
MFVJ	45	23	41		
MLF	38	24	33		
MCOP	39	25	22		
JAS	34	26	24		
MJS	38	27	23		
RBV	28	28	23		
R	40	29	31		
IBM	59				
MAA	25				
CMSP	33				
JR	33				
Média	39.7		29.9		48.0
SD	13.5		6.2		18.3
N	34		29		21

p>0.05 (Análise de Variância - ANOVA)

Anexo 2. Distribuição de Peso (kg)

	<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
	54	64	68
	56	57	70
	45	59	69
	58	63	62
	67	56	73
	69	68	82
	56	69	55
	51	67	71
	44	70	99
	54	54	50
	36	70	84
	64	67	89
	55	69	76
	50	64	68
	38	56	80
	54	57	66
	51	63	
	53	59	
	66	68	
	66	57	
	63	62	
	50	55	
	58	50	
	60	59	
	78	58	
	50	49	
	52		
	50		
	52		
	57		
Média	55,6	61,1	72,9
Desvio Padrão	8,9	6,1	12,2



Anexo 3: Variação dos pesos (kg)

Anexo 4: Hipertireoidismo

<i>Nome</i>	<i>Doença</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T4 livre</i>	<i>TSH</i>	<i>TSHUS</i>
CFL	G	596	> 30	..	< 0.05	..
MFS	G	300	15	..	< 0.12	..
SHLS	G	400	19	> 4.5	< 0.12	..
AAM	G	..	..	> 7.2	..	< 0.01
MNB	G	225	> 20	2.8	< 0.22	< 0.009
AS	G	528	24	..	..	< 0.09
KRSN	G	500	20	3.6	< 0.05	< 0.009
LC	G	..	..	4.2	..	< 0.01
MMS	G	420	22	..	< 0.03	< 0.009
MO	G	719	> 25	..	..	< 0.009
GMAC	G	..	..	3.5	..	< 0.009
TM	G	765	23	..	< 0.05	..
TDA	G	382	21	..	..	< 0.009
MRM	P	..	..	..	..	< 0.009
MCSB	P	418	16	..	< 0.10	..
MAS	..	..	..	..	..	< 0.009
VSS	P	261	18	..	< 0.10	..
IR	G	> 800	> 20	..	< 0.10	..
MMBB	G	320	14	..	< 0.01	..
MAS	G	440	> 20	..	< 0.10	..
MOS	G	..	..	..	..	< 0.009
LMG	..	200	10	..	< 0.01	..
MAFL	G	600	> 20	..	< 0.01	..
MFVJ	G	724	20	..	< 0.05	..
MLF	G	574	> 24	..	..	..
MCOP	G	..	> 20	..	< 0.10	..
JAS	G	800	> 24	..	< 0.10	< 0.53
MJS	G	..	..	..	..	< 0.009
RBV	G	556	20	..	< 0.01	..
R	G	430	18	..	..	< 0.009
IBM	G	..	..	2.7	< 0.009	..
MAA	G	800	> 25	..	< 0.01	..
CMSP	G	..	..	..	..	< 0.009
JR	G	..	..	..	< 0.01	..

G - Doença de Basedow Graves

P - Plummer-Vinson

Valores Normais:

T3	80 - 200 ng%
T4	6.1 - 11.8 µg%
T4 L	0.7 - 2.2 ng%
TSH	0.4 - 3.1 µUI/ml
TSHUS	0.38 - 6.15 µUI/ml

Anexo 5: Hipotireoidismo

<i>Nome</i>	<i>Doença</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T4livre</i>	<i>TSH</i>	<i>TSHUS</i>
AMM	PRIM	..	..	<0.009	..	> 50
RCS	PRIM	..	..	0.69	..	> 50
MAMM	PRIM	..	..	1.33	..	> 50
ABOS	..	..	..	..	..	> 50
SCC	PRIM	201	3.9	..	..	20
MPSL	POSOP	88	< 2.0	..	26	..
IGO	..	..	..	..	..	10
LRF	..	..	..	..	..	> 50
MOS	HASH	89	3.8	..	17	..
IAM	HASH	161	6.5	..	5	..
RAK	HASH	121	2.6	1.74	43.9	..
SC	HASH	..	..	..	..	> 15
LAL	HASH	43	< 0.09	<0.009	..	> 50
CPRM	PRIM	66	1.4	..	..	> 8.7
MOLS	PRIM	71	1.3	..	..	> 50
EMB	POSOP	103	3.6	<0.63	..	11
MRD	HASH	..	..	..	> 50	..
ELN	HASH	88	4.1	..	> 50	..
IRC	PRIM	124	..	0.38	5	> 7.9
MEAD	HASH	..	..	..	..	8.2
LP	HASH	105	6.2	..	18	28

PRIM - Hipotireoidismo primário

POSOP - Pos operatório

HASH - Tireoidite de Hashimoto

Valores Normais:

T3	80 - 200 ng%
T4	6.1 - 11.8 µg%
T4livre	0.7 - 2.2 ng%
TSH	0.4 - 3.1 µUI/ml
TSHUS	0.38 - 6.15 µUI/ml

Anexo 6. Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (R)

	<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
	1,09	1,12	1,57
	0,75	1,23	1,08
	0,94	1,01	1
	1,09	1,03	1
	0,98	1,16	1,08
	0,81	1,15	1,13
	0,88	1,21	0,81
	1,1	1,09	0,74
	0,77	0,94	0,9
	1	0,92	0,92
	1	1,04	1,03
	1,09	0,84	1,05
	1	0,91	1,08
	1,09	0,88	0,77
	0,9		1,01
	0,73		1,02
	1,09		0,96
	1		1,02
	1,03		1,01
	0,98		1,18
	0,94		
	1,08		
	0,9		
	0,74		
	0,98		
	1,24		
	1,16		
	1,20		
	1,05		
	0,99		
	0,95		
	1,14		
<i>Média</i>	0,99	1,05	1,02
<i>Desvio Padrão</i>	0,13	0,12	0,17
<i>N</i>	32	13	20

Teste não paramétrico de Kall Wallis $p > 0,05$ NS

Anexo 7. Dosagens de Fator XI (%)

	<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
	80	98	67
	86	128	190
	74	187	103
	141	85	184
	282	121	134
	135	93	138
	114	86	
	139	93	
	80	94	
	96	105	
	175	110	
	67	108	
	190	133	
	138,5	85	
	134	109	
	184	89	
	103	118,5	
Média	130	108	136
Desvio Padrão	54	25	47
N	17	17	6

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Anexo 8. Dosagens de Fator XII (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
49	125	89
46	100	74
90	100	63
123	117	49
86	115	84
185	110	89
97	123	
118	151	
79	114	
62	118,5	
146	133	
	93	
	109	
	71	
	85	

Média	98	111	74,6
Desvio Padrão	42	19,6	16
N	11	15	6

Análise de variância - ANOVA $p < 0,05$

Anexo 9. Níveis de Precalicerina (mU/mL)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
548	525	475
590	361	671
455	435	262
603	490	480
328	435	270
470	916	608
441	509	460
322	680	570
317	490	545
332	347	638
268	332	357
460	639	822
346	554	384
341	723	134
221	435	
362	545	
707	545	
495		
470		
490		
629		
139		
337		
436		
193		
812		

Média	427	527	476
Desvio Padrão	158	148	184
N	26	17	14

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

Anexo 10. Níveis de C1 Inibidor (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
110	91	112
104	105	91
110	110	81
83	112	92
83	97	110
83	100	85
85	85	94
97	95	112
80	85	86
92	86	94
90	103	100
95	97	92
100	90	79
97	109	92
85	81	82
105	100	86
90	90	111
112	100	75
103		74
130		82
120		
140		
129		
113		
87		
75		
89		

Média	99	96	91
Desvio Padrão	16	9,2	11
N	27	18	20

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

Anexo 11. Níveis de α 2-Macroglobulina (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
147	92	113
188	84	67
152	84	83
92	95	67
100	87	105
92	147	84
111	147	123
78	137	123
107	131	82
119	146	82
147	94	75
116	118	89
147	123	100
84	115	103
100	169	109
138	154	66
85	161	66
140	169	101
82		60
105		96
105		
108		
89		
75		
91		
108		
95		

Média	111	125	90
Desvio Padrão	27	30	19
N	27	18	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

Anexo 12. Dosagens de Fator VIII (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
350	90	35
470	142	80
320	95	68
140	110	100
400	89	70
160	67	38
270	82	100
115	84	89
320	83	90
134	84	149
182	144	64
153	148	83
116	63	41
180		116
99		143
520		107
309		49
332		160
120		
195		
249		
245		
242		
264		
176		
178		

<i>Média</i>	239,9	98,5	87,9
<i>Desvio Padrão</i>	112	28,7	37,4
<i>N</i>	26	13	18

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0,05$

Anexo 13. Dosagens de Fator de von Willebrand (%)

	<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
	480	81	70
	238	109	62
	219	123	77
	165	82	89
	234	95	133
	193	100	61
	120	71	75
	112	71	125
	171	86	184
	200	128	96
	179	87	118
	388	105	87
	168	100	92
	222	123	120
	320	122	123
	280	122	77
	320	122	72
	340	105	95
	380	100	105
	233		68
	216		75
	217		
	100		
	492		
	322		
	222		
	210		
	170		
	150		
	130		
	175		
	104		
Média	233	101	95
Desvio Padrão	101	18	30
N	32	19	21

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0,05$

Anexo 14. Tempo de Trombina (R)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
1.02	0.92	0.92
0.95	0.98	1.07
1.0	0.93	1.21
0.98	0.93	1.04
1.13	0.92	1.92
1.0	0.88	1.00
1.05	1.03	0.95
1.18	0.91	0.97
1.15	0.87	0.93
0.99	0.96	0.95
1.17	1.04	0.99
1.17	1.00	1.12
0.92	1.01	1.01
0.92	1.05	0.93
1.04	0.98	0.88
0.94	0.86	0.94
1.03		0.97
1.00		1.13
1.23		
0.98		
1.10		
0.88		
1.03		
1.01		
0.97		
0.86		
1.02		
1.01		
0.95		

Média	1.02	0.95	1.05
Desvio Padrão	0.09	0.06	0.23
N	29	16	18

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

Anexo 15. Dosagens de Fibrinogênio (mg%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
290	291	282
349	307	480
349	409	382
349	216	435
382	316	380
300	200	334
308	198	218
324	208	261
213	235	435
276	350	116
261		316
316		218
200		422
232		225
197		312,5
326		268,5
206		312
211		185
390		

Média	288	273	310
Desvio Padrão	63	72	98
N	19	10	18

Análise de variância - ANOVA $p > 0.05$ NS

Anexo 16. Tempo de Lise de euglobulina (min)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>	
Lise pré	Lise pré	Lise pré	
385	265	235	
505	235	265	
235	235	355	
205	210	175	
145	235	265	
415	235	205	
445	235	595	
295	295	265	
Lise pós	Lise pós	Lise pós	
325	205	145	
235	205	205	
175	115	295	
205	130	115	
45	205	235	
285	175	175	
385	175	145	
265	175	145	
Média Lise pré /Média Lise pós (dif)	355 / 267 (-87)	243 / 173 (-70)	295 / 182 (-112)
Desvio Padrão TLE pré/ TLE pós (dif)	112 / 71	25 / 34)	132 / 59
N TLE pré /TLE pós	7 / 7	8 / 8	8 / 8

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Anexo 17. Área de Lise em placa de fibrina (mm²)

Hiper	Controle	Hipo
ALPF pré	ALPF pré	ALPF pré
64	56	99
72	81	80
84	160	86
46	142	163
121	72	115
48	76	125
39	56	72
56	76	70
ALPF pós	ALPF pós	ALPF pós
126	86	176
120	89	132
143	225	143
53	160	240
475	90	120
72	124	147
60	159	169
64	202	161

Média ALPF pré /	66 / 139 (72)	89 / 141 (52)	101 / 161 (60)
Média ALPF pós (dif)			
Desvio Padrão ALPF	26 / 140 (115)	39 / 53 (43)	31 / 36 (32)
pré/ ALPF pós (dif)			
N ALPF pré/ALPF pós	8 / 8	8 / 8	8 / 8

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

ALPF PRÉ - $p = 0.048^*$

ALPF PÓS - $p = 0.040^*$

(Diferença entre grupos hiper e hipo)

Anexo 18. Proteína C (%)

	Hiper	Controle	Hipo
	105	68	90
	126	77	110
	105	102	81
	54	73	85
	59	63	67
	72	84	86
	102	73	119
	58	79	85
	68	85	73
	47	85	63
	31	75	52
	63	85	200
	94	71	180
	114	73	105
	114	127	116
	100		162
	85		128
	100		66
	71		66
	100		
	85		
	100		
	114		
	52		
	63		
	47		
	41		
	122		
	112		
	117		
	99		
Média	84	81	101
Desvio Padrão	27	15	41
N	31	15	19

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Anexo 19. Proteína S Total (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
90	73	109
97	91	80
97	91	114
100	80	102
104	108	93
105	86	93
89	78	99
92	86	113
80	68	100
95	79	100
93	141	100
93	94	81
107	99	116
81	84	87
92	99	108
92	89	89
92	104	100
99		100
92		79
99		79
92		
89		
113		
100		
100		
87		
81		

Média	94	91	97
Desvio Padrão	7,8	16	11
N	27	17	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Anexo 20. Proteína S Livre (%)

	<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
	140	82	59
	96	95	100
	84	123	89
	85	116	95
	115	62	82
	68	86	82
	73	66	93
	71	66	88
	75	66	80
	91	84	63
	69	94	52
	50	58	70
	62		91
	100		70
	110		83
	110		116
	100		83
	88		104
	100		100
	88		57
	110		
	114		
	88		
	82		
	133		
	96		
	70		
<i>Média</i>	91	83	82
<i>Desvio Padrão</i>	21	21	16
<i>N</i>	27	12	20

Análise de variância - ANOVA $p < 0.05$

Anexo 21. Tempo de Protrombina (RNI)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
1,09	1	1,09
1,09	1	0,84
1,09	1	1,23
1,19	0,98	0,95
1,09	0,95	1,03
1,19	1,07	1,09
1	1,15	1,01
1	1,16	1,09
1,08	1,16	1,29
0,98	1	1,09
0,91	1	1
0,97	1,02	1,13
1,04	1,05	1,4
1,08	1	1,15
1,3	1,15	1,05
1,14		1,12
1,12		1
1,03		1,09
1,23		1,19
1		1,01
1,15		
1,32		
1,23		
1,09		
1,19		
1,35		
1,08		
1,21		
1,27		
1,08		
1,12		
1,15		

Média	1,12	1,05	1,09
Desvio Padrão	0,10	0,07	0,12
N	32	15	20

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0.05$ NS

Anexo 22. Dosagens de Fator V (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
84	80	72
120	200	80
150	115	80
92	82	225
100	88	155
120	76	125
135	80	120
135	115	100
120	80	125
155	80	135
84	100	120
105	140	120
80	86	145
120	80	90
120		130
52		160
74		100
115		72
74		88
135		
56		
50		
100		
100		
100		
70		
68		
160		
90		
290		
115		
80		

Média	107	100	118
Desvio Padrão	43	34	37
N	32	14	19

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p > 0,05$ NS

Anexo 23. Dosagens de Fator VII (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
90	90	86
	72	160
115	63	120
90	105	100
100	79	130
130	93	170
80	89	68
110	152	98
160	111	71
120	95	130
100	65	
56		
72		
92		
180		
99		
132		
71		
63		
103	92	113
32	25	34
18	11	10

Análise de variância - ANOVA $p > 0,05$ NS

Anexo 24. Dosagens de Prealbumina (%)

<i>Hiper</i>	<i>Controle</i>	<i>Hipo</i>
46	81	146
92	79	113
61	75	89
80	62	78
66	87	22
60	62	83
106	62	92
86	83	61
53	100	75
45	66	100
39		93
69		100
50		105
112		137
90		100
150		116
150		120
75		86
83		
153		
167		
100		
83		
83		
43		
50		
44		
73		
52		

Média	81	75	95
Desvio Padrão	36	12	28
N	29	10	18

Teste não paramétrico de Kruskal Wallis $p < 0.05$

ANEXO 25 a: Estudo das correlações das variáveis de interesse com T3, T4, TSH e TSHUS

Grupo Hipertireoideo

<i>Variável</i>		<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>TSH</i>	<i>TSHUS</i>
<i>VIII</i>	r (Spearman)	0.1169	0.1590	0.1561	0.6504
	P - valor	0.6441	0.5156	0.5636	0.0220
	N	18	19	16	12
<i>VW</i>	r (Spearman)	0.3184	0.0848	0.4411	0.0280
	P - valor	0.1595	0.7076	0.0669	0.9180
	N	21	22	18	16
<i>Peso</i>	r (Spearman)	0.0491	0.2546	0.0414	0.6101
	P - valor	0.8281	0.2411	0.8706	0.0205
	N	22	23	18	14
<i>Altura</i>	r (Spearman)	-0.0264	0.0656	-0.1993	---
	P - valor	0.9144	0.7835	0.4765	---
	N	19	20	15	---
<i>Prot SL</i>	r (Spearman)	-0.2427	-0.1948	0.3563	-0.2712
	P - valor	0.3167	0.4242	0.2112	0.3096
	N	19	19	14	16
<i>Alfa 2</i>	r (Spearman)	-0.0440	0.0835	0.3517	-0.0127
	P - valor	0.8581	0.7265	0.1986	0.9658
	N	19	20	15	14
<i>Prealb</i>	r (Spearman)	-0.5000	-0.7191	0.0948	-0.3743
	P - valor	0.0178	0.0002	0.7268	0.1693
	N	22	22	16	15

ANEXO 25 b: Estudo das correlações das variáveis de interesse com T3, T4, TSH e TSHUS

Grupo Hipotireoideo

<i>Variável</i>		<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>TSH</i>	<i>TSHUS</i>
<i>VIII</i>	r (Spearman)	---	---	---	0.0031
	P - valor	---	---	---	0.9917
	N	---	---	---	14
<i>VW</i>	r (Spearman)	-0.3187	-0.3082	---	0.0777
	P - valor	0.3126	0.3565	---	0.7748
	N	12	11	---	16
<i>Peso</i>	r (Spearman)	---	---	---	-0.2295
	P - valor	---	---	---	0.4731
	N	---	---	---	12
<i>Altura</i>	r (Spearman)	---	---	---	-0.4948
	P - valor	---	---	---	0.1218
	N	---	---	---	11
<i>Prot SL</i>	r (Spearman)	0.1259	0.1913	---	-0.0696
	P - valor	0.6967	0.5730	---	0.8055
	N	12	11	---	15
<i>Alfa 2</i>	r (Spearman)	0.3964	---	---	0.1481
	P - valor	0.2275	---	---	0.5985
	N	11	---	---	15
<i>Prealb</i>	r (Spearman)	---	---	---	-0.3931
	P - valor	---	---	---	0.1839
	N	---	---	---	13

Anexo 26

<i>Cão</i>	<i>Cirurgia Prévia</i>	<i>Peso (kg)</i>	<i>VIII (%)</i>	<i>vW (%)</i>
1	Hepática	18	522	> limite
2	Joelho	13	443	> limite
3	Bexiga	25	252	> limite
4	Pulmão	30	472	> limite
5	Sem	17	360	> limite

Anexo 27

<i>Cão</i>	<i>Sexo</i>	<i>peso inicial</i>	<i>peso final</i>	<i>diferença de peso</i>	<i>VIII 1</i>	<i>VIII 2</i>	<i>VIII 3</i>	<i>vW1</i>	<i>vW 2</i>	<i>vW 3</i>
Hiper	F	6.5	7.4	0.9	443	184	188	100	81	81
Hiper	F	7.3	6.9	-0.4	252	238	188	69	94	75
Controle	F	4.5	5.1	0.6	472	229	-	112	69	-
Controle	F	5.1	6.7	1.6	360	265	238	69	106	103

Anexo 28

<i>Cão</i>	<i>PI - PF</i>	<i>Dif Peso</i>	<i>VIII 1</i>	<i>VIII 2</i>	<i>VIII 3</i>
Hiper	6.8 - 7.7	0.9	115	124	130
Hiper	6.0 - 6.9	0.9	119	124	125
Hiper	7.3 - 8.0	0.7	135	160	156
Hiper	7.5 - 8.0	0.5	127	130	146
Hiper	7.8 - 7.9	0.1	138	114	77
Hiper	9.5 - 9.5	zero	41.5	96	60
Hiper	7.7 - 7.7	zero	97.3	201	121
Controle	5.5 - 5.5	zero	43	48	51
Controle	6.2 - 7.0	0.8	92	67	64
Controle	5.2 - 5.5	0.3	129	207	143 estresse ++
Controle	7.0 - 6.9	- 0.1	118	100	148
Controle	6.3 - 6.4	0.1	132	177	156

dif PI/PF = diferença peso inicial e final

Anexo 29 - Resultado Indução VO 14 dias

<i>Cão</i>	<i>Grupo</i>	<i>VIII 1</i>	<i>VIII 2</i>	<i>VIII 3</i>	<i>vW 1</i>	<i>vW 2</i>	<i>vW 3</i>
Cão 1	controle	220	220	300	142	110	113.5
Cão 2	controle	200	155	240	109	100	92
Cão 3	controle	140	140	140	110	100	119
Cão 4	controle	115	120	110	115	107.6	107.6
Cão 5	hiper	82	185	223	87	84.6	86.5
Cão 6	hiper	130	260	185	98	113.5	138
Cão 7	hiper	155	74	140	98	90	100
Cão 8	hiper	160	110	110	100	107.6	92
Cão 9	hiper	78	90	68	119	107.6	-
Cão 10	hiper	100	96	110	92	115.5	107.6

<i>Cão</i>	<i>Grupo</i>	<i>T4 1</i>	<i>T4 2</i>	<i>T4 3</i>	<i>T3 1</i>	<i>T3 2</i>	<i>T3 3</i>
Cão 1	controle	1.61	1.91	3.94	20.47	20.9	51.22
Cão 2	controle	1.31	1.80	1.32	51.24	8.55	23.51
Cão 3	controle	-	0.51	0.64	30.86	47.78	48.2
Cão 4	controle	1.46	0.95	1.34	11.29	8.45	23.86
Cão 5	hiper	2.15	5.61	5.01	16.84	0.27	41.66
Cão 6	hiper	1.08	2.82	8.13	-	27.46	39.50
Cão 7	hiper	2.49	1.70	9.60	28.05	27.21	29.50
Cão 8	hiper	1.67	2.72	2.97	49.59	68.23	65.48
Cão 9	hiper	1.97	2.00	5.11	63.97	78.49	87.7
Cão 10	hiper	1.60	2.41	2.07	37.04	52.6	37.27

Anexo 30 - Resultado Indução VO 30 dias

Cão		T4 1	T4 2	T4 3	T4 4	T3 1	T3 2	T3 3	T3 4
Cão 1	hiper	1.7	3.0	8.0	5.4	54	60	115	80
Cão 2	hiper	0.8	3.2	9.0	5.5	28	52	105	88
Cão 3	hiper	1.15	2.0	2.4	2.8	68	46	42	39
Cão 4	hiper	1.06	3.6	3.8	3.0	16.8	40	50	25
Cão 5	control	0.51	0.95	1.25	1.05	21.5	24	21	19
Cão 6	control	0.75	0.85	1.1	0.95	20	30	23	19.5

Cão		VIII 1	VIII 2	VIII 3	VIII 4
Cão 1	hiper	53.78	57.16	52.96	57.46
Cão 2	hiper	101.9	108.6	120.2	163.9
Cão 3	hiper	91.48	58.8	78.52	64.65
Cão 4	hiper	20.16	59.48	47.56	60.38
Cão 5	control	89.82	75.61	104.0	67.13
Cão 6	control	68.59	87.41	96.04	63.50

Observação: T4 normal = 0.73 – 2.9 ug/dl

T3 normal = 50 - 180 ug/dl

Anexo 31 - Resultado Indução SC 14 dias

<i>Cão</i>	<i>Grupo</i>	<i>VIII1</i>	<i>VIII 2</i>	<i>VIII3</i>	<i>vW 1</i>	<i>vW2</i>	<i>vW 3</i>
Cão 1	controle	63	82	82	175	166	150
Cão 2	controle	118	-	99	184	150	158
Cão 3	controle	130	155	159	166	158	166
Cão 4	hiper	134	92	44	200	150	133
Cão 5	hiper	91	120	57	166	175	166
Cão 6	hiper	44.5	101	75	158	166	158
Cão 7	hiper	104	113.5	85	150	150	150
Cão 8	hiper	70	135	88	166	150	166

<i>Cão</i>	<i>Grupo</i>	<i>Peso I g</i>	<i>Peso D13 g</i>	<i>Peso F g</i>	<i>T3 1</i>	<i>T3 2</i>	<i>T3 3</i>	<i>FC1</i>	<i>FC2</i>	<i>FC3</i>
Cão 1	controle	11000	11300	10700	42,7	80	97	130	187	115
Cão 2	controle	11000	12000	12000	-	25.2	43.9	85	115	83
Cão 3	controle	13300	12000	10000	146.1	53	51.3	78	136	100
Cão 4	hiper	11600	10300	10000	131.6	600	600	150	214	250
Cão 5	hiper	11600	9600	8500	-	600	600	176	187	166
Cão 6	hiper	11900	10000	9800	287.8	600	600	115	240	187
Cão 7	hiper	15000	10500	9400	-	557	600	136	250	176
Cão 8	hiper	10500	9500	9000	58.5	600	600	187	250	214