



- **Título de la comunicación:**

Evaluación laboratorial de la hipercoagulabilidad en perros con *Dirofilaria immitis*

- **Resumen (su extensión máxima será de 250 palabras):**

El éxito del tratamiento adulticida y el pronóstico del paciente dependen de la gravedad inicial de la infección por *Dirofilaria immitis* en perros. Se realizó un muestreo para evaluar la utilidad diagnóstica de los marcadores de coagulación PT y APTT, así como del examen hematológico para la contribución de la evaluación del paciente infectado y del riesgo de presentar tromboembolismo pulmonar (TEP). Se recolectaron muestras tanto en fresco como en tubos de EDTA de 17 perros infectados con *D. immitis* para la medición de estos tiempos. Los perros se asignaron como: perros con carga parasitaria baja, perros con carga parasitaria alta, perros con hipertensión pulmonar y perros sin hipertensión pulmonar. Finalmente, los resultados mostraron un estado de hipercoagulabilidad especialmente en aquellos perros que presentan una carga parasitaria elevada e hipertensión pulmonar.

- **Desarrollo de la comunicación (su extensión máxima será de 1.000 palabras):**

Introducción

La dirofilariosis es causada por el nemátodo *Dirofilaria immitis*, que se aloja en la arteria pulmonar y en las cámaras cardíacas derechas de los animales infectados, siendo una enfermedad zoonótica y potencialmente mortal en cánidos. El éxito y pronóstico del tratamiento adulticida dependen del estado inicial del paciente y su gravedad, influyendo en el protocolo terapéutico a elegir¹.

La hipertensión pulmonar (HP) comprende la elevación sostenida de la presión sistólica en la arteria pulmonar, superando el umbral de los 30 mmHg, obtenida indirectamente y siendo estimada mediante ecocardiografía. Además, implica un proceso complejo y multifactorial desempeñando un papel importante en la mediación de los cambios estructurales de la vasculatura pulmonar. Esta disfunción genera una producción alterada de proteínas de fase aguda que se reconoce cada vez más en pacientes con HP³.

En áreas endémicas, la dirofilariosis canina es la causa más frecuentemente descrita de HP y es la consecuencia más severa de la parasitosis por *D. immitis*. Se produce tanto por obstrucción mecánica de los vasos pulmonares, como por la vasoconstricción reactiva mediada por sustancias vasoactivas y la endarteritis proliferativa provocada por la presencia de los gusanos adultos, que genera un daño endotelial severo. Como consecuencia, se producirá la fragmentación de glóbulos rojos y la liberación de procoagulantes desde su citoplasma que favorecen la aparición de síndromes trombóticos. Estos síndromes son muy frecuentes en dirofilariosis, siendo el tromboembolismo pulmonar (TEP), la primera causa de muerte en los perros infectados¹.

La hipercoagulabilidad, también llamada trombofilia, describe un estado alterado de los mecanismos de coagulación. Las condiciones hipercoagulables son desórdenes en la

hemostasia que se dividen en primarios o adquiridos y predisponen a los animales a la formación de tromboembolismos debido a cambios anormales en la sangre o en la vasculatura. Los tiempos de protrombina (TP) y de tromboplastina parcial activada (APTT) son comúnmente utilizados para detectar alteraciones de la coagulación a nivel de las vías intrínseca, extrínseca o común. También se emplea para controlar una patología ya diagnosticada y para confirmar o excluir una patología de la cual se sospecha.

Así, el objetivo de este estudio fue evaluar los tiempos de coagulación, PT y APTT, junto a un examen hematológico, en animales infectados por *D. immitis* con presencia de HP y alta carga parasitaria, para evaluar su utilidad diagnóstica y que pudiera contribuir a la elección de un tratamiento adecuado.

Material y métodos

El presente estudio incluye 17 perros que acudieron al centro veterinario entre septiembre de 2020 y septiembre de 2021. Se mantuvo un registro completo de cada animal incluyendo identificación, nombre, edad, sexo, raza, hábitat, código postal, sintomatología que presentan al inicio del tratamiento, valores ecocardiográficos y hematológicos. Los criterios de inclusión fueron perros positivos a *D. immitis* que no hubiesen iniciado ningún tipo de tratamiento contra la dirofilariosis.

Los animales de este estudio fueron diagnosticados utilizando un kit de prueba inmunocromatográfica comercial de detección de antígenos (Uranotest Dirofilaria, Urano Vet SL, Barcelona). Mediante ecocardiografía se determinó la presencia/ausencia de HP, utilizando el Índice de Distensibilidad de la Arteria Pulmonar Derecha (IDAP), y considerándose HP valores $<35\%$. La carga parasitaria también fue estimada ecocardiográficamente y fue basada en una puntuación de 1 a 4, de acuerdo con las características de visualización de los parásitos en las arterias pulmonares⁴. Se consideró baja carga parasitaria las puntuaciones 1 y 2 (1: No se visualizan parásitos; 2: Visualización de parásitos en la parte distal de arteria pulmonar derecha) y alta carga parasitaria las puntuaciones 3 y 4 (3: Visualización de parásitos ocupando arteria pulmonar derecha y extendiéndose hasta arteria pulmonar principal; 4: Visualización de parásitos ocupando toda la arteria pulmonar derecha y arteria pulmonar principal a nivel de la válvula pulmonar).

Durante la consulta, se determinaron los tiempos de coagulación (TP y APTT) con sangre fresca extraída de la vena cefálica, desechando la primera gota y depositando 10 microlitros de la siguiente para una lectura electro-conductimétrica, empleando el aparato portátil q-Labs (RAL S.L., Barcelona). Se establecieron los valores de referencia indicados por el fabricante para perros sanos (PT >14 segundos, APTT >94 segundos). Además, se recogieron muestras de sangre en tubos EDTA para su posterior examen hematológico utilizando el analizador Urit Smart V5 (RAL S.L., Barcelona).

Los datos fueron analizados utilizando el software SPSS Base 20.0 para Windows (SPSS Inc./IBM, Chicago, IL, EE. UU.) El análisis descriptivo de las variables consideradas se realizó considerando las proporciones de las variables cualitativas. En todos los casos, el nivel de significancia se estableció en $P < 0.05$.

Resultados

De los perros estudiados el 52,9% (n=9) presentó una carga parasitaria baja, de los cuales un 22,2% (n=2) presentaba HP. Por otro lado, el 47,0% (n=8) presentó una carga parasitaria alta, de los cuales un 50% presentaba HP (n=4). Del total de perros estudiados, el 29,41% (n=5) presentaron alteraciones en la coagulación (hipercoagulabilidad) con unos valores medios de PT $11 \pm 2,5$ segundos y de APTT 89 ± 4 segundos.

De los animales que presentaban una carga parasitaria baja, sólo el 11,1% (n=1) presentó alteraciones en la coagulación frente a un 50% (n=4) de alteraciones en la coagulación que presentaron los individuos de carga parasitaria alta. Diferencias significativas fueron encontradas entre los distintos grupos con respecto a la coagulación dependiendo de la carga parasitaria ($p < 0,05$).

Cuando la HP fue evaluada, se observaron diferencias significativas en los valores de PT y APTT al compararlo con animales que no presentan HP. De los pacientes que presentaban HP leve/moderada, un 50% (n=3) presentó un estado de hipercoagulabilidad frente a los perros sin HP, de los cuales sólo un 18,2% (n=2) presentó un estado de hipercoagulabilidad.

Todos los animales estudiados presentaron hemogramas normales, sin presencia de anemia, ni reducción del plaquetocrito.

Discusión

La dirofilariosis en perros es una enfermedad crónica. La agresión primaria es la generación de una endoarteritis proliferativa causada por la presencia de parásitos adultos de *D. immitis* en las arterias pulmonares, que genera un daño endotelial y que de manera crónica provocará una HP secundaria. Este daño endotelial comienza desde el mismo momento en que los parásitos adultos alcanzan las arterias pulmonares del perro infectado.

Debido a la muerte de los parásitos y al desprendimiento de vellosidades del endotelio dañado la dirofilariosis predispone a un estado de hipercoagulabilidad favoreciendo la formación de TEP, siendo esta la principal causa de muerte en cánidos con *D. immitis*. Por esta razón, es importante conocer nuevas herramientas para poder conocer y evaluar el estado de coagulación en el paciente al inicio del tratamiento.

Este trabajo demuestra que los perros con dirofilariosis presentan alteraciones de la coagulación evaluada mediante la medición de PT y APTT. Los resultados muestran una mayor tasa de coagulabilidad en los animales que presentan una carga parasitaria elevada. Esto probablemente sea debido al mayor número de parásitos, que favorecerá la generación de TEP provocados por la muerte de los gusanos adultos. Además, los parásitos ocasionan una obstrucción mecánica de los vasos ocasionando interferencia en el flujo sanguíneo lo que podría aumentar la fragilidad de los glóbulos rojos y liberando así, agentes procoagulantes que generaran una alteración en los tiempos de coagulación evaluados. Estos resultados son acordes a los obtenidos en estudios previos, que demostraron presencia de concentraciones séricas aumentadas de dímero-D en perros con dirofilariosis, siendo más frecuente en aquellos con cargas parasitarias elevadas².

Igualmente, se observa que la presencia de HP favorece la alteración de los valores de PT y APTT en este estudio. Esto podría ser provocado por la disfunción endotelial que se produce como consecuencia de la endarteritis pulmonar causada por los parásitos adultos, causante a su vez de HP en estos perros. Dado que la HP es una de las consecuencias más frecuentes y graves de la dirofilariosis canina, la medición de marcadores de coagulación podría contribuir a la evaluación del perro infectado para determinar el daño a nivel endotelial, así como el riesgo y/o presencia de TEP. Esto podría contribuir a determinar la gravedad de la enfermedad y, en consecuencia, a escoger un protocolo terapéutico más adecuado.

Conclusiones

Los resultados muestran un estado de hipercoagulabilidad en perros con dirofilariosis, especialmente aquellos que presentan una carga parasitaria elevada e HP. Por ello, parece necesario evaluar el estado de coagulación de los perros infectados por *D. immitis*. Sin embargo, es necesario la realización de nuevos estudios con mayor número de animales que contribuyan a determinar la utilidad de estos parámetros sanguíneos en el paciente para evaluar su estado inicial.

- **Referencias bibliográficas (su extensión máxima será de 500 palabras):**

1. Cabrera E.D, Carretón E, Morchón R, Falcón-Cordón Y, Falcón-Cordón S, Montoya-Alonso J.A. The Canary Islands as a model of risk of pulmonary dirofilariasis in a hyperendemic area. *Parasitol Res.* 2018. Vol. 117: 933-936.
2. Carretón E, Morchón R, Simón F, Juste M.C, Méndez J.C, Montoya-Alonso J.A. Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariosis. *Vet Parasitol.* 2014. Vol. 206: 43-47.
3. Méndez J. C, Carretón E, Martínez-Subiela S, Tvarijonaviciute A, Cerón J. J, Montoya-Alonso J.A. Acute phase protein response in the heartworm-infected dogs after adulticide treatment. *Vet Parasitol.* 2015. Vol 209: 197-201.
4. Venco L, Mihaylova L, Boon A. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index). A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. *Vet Parasitol.* 2014. Vol. 206: 60-66.
5. Venco L, Genchi C, Vigevari Colson P, Kramer L. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. *AHS.* 2001. Vol. 01: 111-124.