

CAPITOLUL 4. EXPLORAREA SERIEI PLACHETARE ȘI A HEMOSTAZEI

Hemostaza este un mecanism protector, de apărare împotriva hemoragiilor spontane sau induse, care are ca rezultat oprirea sângerării și refacerea vasului.

Hemostaza se realizează cu participarea activă a peretelui vascular și a unor factori plasmatici, plachetari și tisulari, care formează la nivelul leziunii vasculare un **cheag roșu** sau **coagul** care oprește hemoragia.

La finalul acestui proces se reface peretele vascular, se repermeabilizează vasul și se reia fluxul circulator. Hemostaza fiziologică necesită un perete vascular integru morfologic și funcțional, un număr normal de plachete și o funcționalitate normală a acestora, precum și o cantitate normală de factori plasmatici ai coagulării.

4.1. Plachetele

Plachetele sau trombocitele sunt fragmente anucleate de citoplasmă megacariocitară, cu diametrul de 2 - 4 μ și o durată medie de viață de 10 zile. Deși sunt « pitice » din punct de vedere morfologic, plachetele sunt dotate cu un echipament enzimatic bogat și cu un aparat mitocondrial activ. Această dotare le conferă calitatea de a fi, nu numai **transportori** ai unor substanțe, ca unele amine vasoactive sau factori plasmatici ai coagulării, dar și **elemente celulare active metabolic, capabile de sinteză**, la nivelul lor sintetizându-se prostaglandine și factori proprii plachetari care intervin în hemostază. Membrana plachetară este sediul unui număr mare de receptori integrinici și non-integrinici care permit intervenția plachetelor în hemostază prin procese de adeziune, eliberare, agregare, retracție. Plachetele activate capătă proprietăți procoagulante, factorii proprii participând sub formă de cofactori în cascada coagulării (fosfolipidul plachetar), dar și în fibrinoliză.

Stadializarea hemostazei, cu tot caracterul ei artificial, subliniază participarea dominantă, într-o anumită etapă, a unora dintre acești factori și permite clasificarea testelor de laborator.

Cei mai mulți autori prezintă hemostaza ca o succesiune de 3,4 sau 5 etape:

1. Etapa vasculo - plachetară
2. Coagularea
3. Retracția cheagului
4. Fibrinoliza

1. Etapa vasculo – plachetară sau hemostaza primară. Este declanșată de lezarea vasului care răspunde rapid, prin **vasoconstricție** locală reflexă, întreținută secundar de aminele vasoactive eliberate de plachete, ca tromboxanul A₂ (TxA₂) sau de endoteliul lezat - endotelina.

Vasoconstricția are rolul de a scădea volumul de sânge pierdut prin vasul lezat. Aproape simultan, plachetele activate aderă la collagenul expus, prin intermediul factorului von Willebrand (vW). Interacțiunea **plachete – vW - collagen** atrage la nivelul leziunii mai multe plachete. Acestea își modifică forma și se degranulează, eliberând factorii conținuți în granule: ADP, serotonină, fibrinogen, TxA₂ etc. Factorii plachetari eliberați facilitează agregarea altor plachete și vasoconstricția, iar prin fosfolipidul plachetar (PL) participă la activarea factorilor coagulării.

În continuare, aderarea plachetelor între ele, proces numit **agregare** este amplificată de legarea fibrinogenului de receptorii glicoproteici membranari. Se formează punți interplachetare, care solidarizează plachetele. În urma aderării, agregării și degranulării se formează **cheagul alb plachetar** care obturează rapid breșa vasculară.



Activarea în exces a plachetelor sanguine va duce la formarea de trombi vasculari. Pentru a deprimă activarea plachetelor, la pacienții cu tendință spre tromboză se administrează aspirină.

- Scăderea numărului sau deficiențele funcționale ale plachetelor duc la sângerări, cu prelungirea timpului de sângerare.

2. Coagularea. Este un proces autoactivat, desfășurat în cascadă, la care participă factori plasmatici, numiți factori ai coagulării, factori plachetari - PL și factori tisulari – tissue factor (TF). Acest proces se finalizează cu formarea **cheagului de fibrină insolubilă**, care consolidează cheagul alb plachetar.

Factorii plasmatici ai coagulării II, VII, IX și X sunt sintetizați sub formă de proenzime în ficat, în prezența vitaminei K, ei făcând parte din complexul protrombinic. Factorii I, V, VIII și XIII sunt activabili prin proteoliză, realizată de trombină, iar factorii XI, XII, kininogenul cu greutate moleculară mare - HMWK și prekalicreina sunt activați de suprafețe rugoase și collagen, motiv pentru care sunt numiți și factori de contact (tabelul 4.1.). Factorii coagulării sunt indicați prin numere romane și litera F (factor) în față, de exemplu FVIII. Formele active au la final un a, de exemplu FVIIIa.

Prezentată foarte schematic coagularea înseamnă transformarea unei proteine plasmatice numită **fibrinogen** în **fibrină** sub acțiunea unei enzime numită trombină.

Trombina, enzima cheie a coagulării nu se găsește în plasmă ca atare, ci sub formă inactivă de protrombină. Activarea ei de către un complex de factori, numit activatorul protrombinei sau protrombinază ocupă cea mai mare parte a coagulării și necesită activarea în cascadă a numeroase alte proteine ale coagulării.

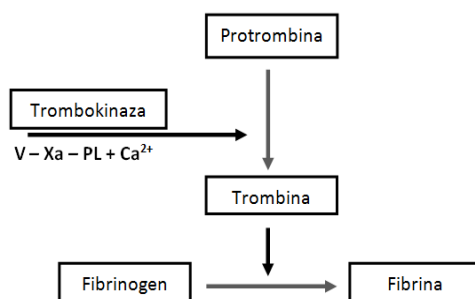


Figura 4.1. Schema redusă a coagulării

Formarea activatorului protrombinei se poate face pe două căi diferite, atât ca timp, cât și ca factori implicați, dar cu importanță egală. Cele 2 căi se întâlnesc pentru a activa FX, după care, coagularea se desfășoară pe o cale unică, comună.

- **Calea extrinsecă sau calea factorului tisular:** se declanșează prima și are o durată de 12-14 secunde. Țesuturile lezate eliberează o proteină numită factor tisular (TF), care are rol de receptor pentru FVII. În momentul legării de TF, FVII se activează. Complexul **TF-FVIIa-Ca²⁺** va activa FX (figura 4.2.).
- **Calea intrinsecă sau calea activării prin contact.** Presupune contactul unor factori ai coagulării cu elemente ale endoteliului lezat, în principal cu collagenul. Factorii de contact care declanșează coagularea prin această cale sunt: FXII, kininogenii cu greutate moleculară mare - High Molecular Weight Kininogen (HMWK) și prekalicreina. Se formează un complex: FXII-HMWK-prekalicreină care se leagă de collagen, ceea ce va duce la activarea FXII. Același complex, dar cu FXIIa, va cataliza activarea lui FIX. FIXa se leagă de FVIII (activat în afara cascadei coagulării de trombină) și împreună cu fosfolipidul plachetar și ionii de calciu, formează un

complex numit tenază: **FVIIIa-FIXa-PL-Ca²⁺**. Tenaza va activa FX și din acest moment, coagularea va urma o cale finală, comună. Factorul Xa se leagă de FV (activat în afara cascadei coagulării de trombină) și împreună cu fosfolipidul plachetar și ioni de calciu formează un complex numit protrombinază, care transformă protrombina în trombină activă: **FXa-FVa-PL-Ca²⁺**.

Cele trei etape ale coagulării sunt:

- 1) Formarea activatorului protrombinei numit protrombinaza.
- 2) Trombinoformarea - formarea trombinei active din protrombină, sub acțiunea protrombinazei.
- 3) Fibrinoformarea - transformarea fibrinogenului în fibrină, sub acțiunea enzimatică a trombinei.



Activarea în exces a coagulării va duce la creșterea riscului de formare a trombilor în vasele noastre, cu posibilitatea apariției infarctului acut de miocard sau a accidentelor vasculare cerebrale trombotice.

- Pentru a preîntâmpina evenimentele trombotice, la pacienții cu tendință spre tromboză, sau la cei care au avut deja evenimente trombotice se administrează inhibitori de vitamină K (Dicumarine). Deficitul unor factori ai coagulării, de exemplu de FVIII (hemofilia A) are drept consecință apariția sângerărilor, cu prelungirea timpilor de coagulare.
- Aceste deficiențe se tratează prin administrarea factorului deficitar.

3. Retracția cheagului

Retracția cheagului urmată de expulzia serului este consecința scurtării prelungirilor plachetare prin intervenția unei proteine contractile numită trombostenina. Este dependentă de numărul și funcționalitatea plachetelor. Deficitul de trombostenină determină trombostenia Glanzmann, în care această etapă a hemostazei este alterată.

4. Fibrinoliza

Reprezintă un proces antitrombotic esențial, care constă în scindarea enzimatică a fibrinei, cu formarea unor fragmente care nu mai pot constitui o rețea coerentă de fibrină. Scindarea se produce sub acțiunea unei enzime proteolitice numită **plasmină**, care se află în plasmă sub formă inactivă, de plasminogen. Acțiunea sa se află sub dublul control al unui sistem activator și altul inhibitor, între care se stabilește un permanent echilibru. Un astfel de cuplu este activatorul tisular al plasminogenului - **tPA** (Tissue plasminogen activator) și inhibitorul acestuia **PAI-1** (inhibitorul activatorului tisular al plasminogenului). tPA-uman obținut prin tehnica de recombinare DNA este folosit în scop terapeutic, el lizând trombi din arterele coronare și cerebrale, dacă se administrează în primele 120 minute de la producerea infarctului. Dimpotrivă, valorile crescute de PAI-1 sunt corelate cu tromboza la nivelul coronarelor și vaselor cerebrale și este citat ca factor agravant al ateromatozei.



Rețineți

Fibrinoliza inefficientă facilitează formarea trombilor vasculari. Din acest motiv, la pacienții care au suferit un infarct acut de miocard se administrează o substanță trombolitică, de exemplu tPA-recombinat uman! Exacerbarea fibrinolizei duce la sângerări severe datorate distrugerii (digerării sau lizei) factorilor coagulării de natură proteică de către plasmină!

Tabel 4.1. Factorii procoagulanți și anticoagulanți - caractere generale				
Factorul	Concentrația plasmatică	Sinteză	Dependența de vit. K	Roluri principale în coagulare
FI Fibrinogen	200-400 mg/dl	ficat	-	Substrat pentru formarea fibrinei
FII Protrombina	10- 20 mg/dl	ficat	+	Transformă fibrinogenul în fibrină. Activează factorii V, VIII, XI, XIII, proteina C și plachetele.
Factorul tisular	-	țesuturi	-	Cofactor - receptor pentru VII.
Ca ⁺⁺	9 - 11 mg/dl	ubivitar	-	Cofactor, intervine în toate etapele hemostazei.
FV Proaccelerina	0,5 - 1 mg/dl	ficat, CE	-	Cofactor, receptor pentru X cu care formează protrombinaza.
FVI	-	-	-	Nedenumit, vechiul nume al lui Va.
FVII Proconvertina	0,2 mg/dl	ficat	+	Activează X și IX. Inițiază coagularea prin mecanism extrinsec.
FVIII AntihemofilicA	1-2 mg/dl	ficat, CE	-	Cofactor pentru IX. Participă la activarea X pe cale intrinsecă.
FIX Antihemifilic B Christmas	0,5 - 0,7 mg/dl	ficat	+	Proenzimă. Face parte din complexul numit tenază. Activează X pe cale intrinsecă.
FX Stuart- Prower	0,6 - 0,8 mg/dl	ficat	+	Proenzimă. Face parte din complexul numit protrombinază. Activează II.
FXI Rosenthal	0,4 mg/dl	ficat?	-	Proenzimă. Activează IX.
FXII Hageman	1,5 - 4,7 mg/dl	ficat?	-	Proenzimă. Factor de contact. Activează XI.
FXIII Stabilizator al fibrinei	1 -4 mg/dl	ficat	-	Transglutaminază. Stabilizează fibrina.
Prekalikreină (PK) Factor Fletcher	5 mg/dl	ficat	-	Proenzimă. Activează XII și clivează HMWK în kinine.
HMWK Factor Fitzgerald	2,5 mg/dl	ficat?	-	Cofactor la activarea XII, XI și a prekalicreinei.
f vW (von Willebrand)	-	ficat, CE plachete	-	Cofactor. Leagă plachetele de endoteliu.

Tabel 4.1. Factorii procoagulanți și anticoagulanți - caractere generale				
Factorul	Concentrația plasmatică	Sinteză	Dependența de vit. K	Roluri principale în coagulare
PL. Fosfolipidul plachetar.	-	plachete	-	Cofactor. Participă la toate etapele coagulării.
Plasminogen	10-15 mg/dl	CE	-	Proenzimă. Sub formă activă de plasmină lizează fibrinogenul și fibrina.
Proteina C	0,4 mg/dl	ficat	+	Inhibitor al coagulării prin inactivarea Va și VIIIa.
Proteina S	1,5 mg/dl	ficat, CE	-	Cofactor al proteinei C.
Antitrombina III		ficat	-	Serin proteaza inhibitorie efectivă în prezența heparinei. Inhibă: trombina și formele active ale factorilor IXa, Xa, XIa și XIIa.
TFPI. Inhibitorul căii mediate de factorul tisular		CE	-	Inhibă activitatea complexului TF- VIIa

4.2. Investigarea hemostazei primare - etapa vasculo-plachetară

Pentru a obține informații despre hemostaza primară se explorează:

- **Vasele**, prin:
 - testul garoului
 - timpul de sângerare
- **Plachetele sanguine**, prin:
 - numărarea plachetelor
 - timp de sângerare
 - aprecierea morfologiei plachetare
 - retracția cheagului
 - testarea funcționalității plachetelor – teste de aderare și agregare
- **Factorul von Willebrand - dozare**

a). Testul garoului sau proba Rumpel-Leede - apreciază rezistența capilarelor la compresiunea realizată cu un garou sau manșeta unui tensiometru. Ca urmare a compresiunii și a blocării întoarcerii venoase, pot apărea rupturi ale capilarelor, cu atât mai numeroase și mai precoc, cu cât rezistența lor mecanică este mai mică sau funcțiile plachetare sunt mai alterate. Prin capilarele cutanate rupte, sângele extravazează și se exprimă prin transparența pielii sub forma unor pete mici, roșii-violacee, numite peteșii. Un număr mare de peteșii înseamnă un rezultat pozitiv. Testul este pozitiv în afecțiuni vasculare, în trombocitopenii sau trombocitopatii. Deoarece este greu de standardizat, acest test are mai mult valoare istorică.

b). Timpul de sângerare (TS) - metoda Duke. Reprezintă timpul de curgere a sângelui dintr-o plagă înțepată sau incizată, în condiții standard.

Materiale necesare: bisturiu sau ac obișnuit, vată, alcool, hârtie de filtru, cronometru.

Tehnica de lucru: se dezinfectează lobul urechii; se înțepă sau se incizează; se pornește cronometrul. Dacă incizia este corect făcută, picăturile de sânge apar spontan. Se șterg picăturile apărute din 30 în 30 de secunde, deoarece eliberarea de factor tisular ar putea declanșa coagularea prin mecanism extrinsec. **Când hârtia nu se mai pătează**, se oprește cronometrul. Proba se repetă și la cealaltă ureche și se face o medie a celor 2 valori.

Valori – Interpretare.

- **Normal**, TS este de 2 - 5 minute, semnificație patologică având-o doar creșterea peste 8 minute.
- **Creșterea TS**, în afara erorilor de tehnică, este întâlnită în anomalii ale peretelui vascular, în scăderi ale numărului de trombocite sau alterări ale funcției lor, în insuficiența hepatică. În cele mai multe coagulopatii, TS este normal.

c). Numărarea plachetelor - se poate face direct, în camera de numărat = metoda Feissly-Ludin, sau prin metode automate.

- **Valori normale:** 150.000 - 400.000/mm³
 - Creșterea numărului de trombocite se definește prin termenii de *trombocitoză* și *trombocitemie*, ambii reflectând creșterea numărului peste 400.000-500.000/mm³.
 - Scăderea numărului de plachete sub 100.000/mm³ (sub 50.000/mm³ după alți autori) se numește *trombocitopenie*.
- **Variații fiziologice:**
 - **Scăderi:** la femei, mai ales în perioada premenstruală; la nou-născuți, la bătrâni, la trecerea bruscă din clinostatism în ortostatism.
 - **Creșteri:** postprandial, mai ales după ingestia de carne; după efort fizic; la altitudine (prin splenoconstricție); după expunerea la ultraviolete; în teritoriul circulației pulmonare; după: naștere, intervenții chirurgicale, traumatisme cu alterări tisulare. Răspunsul este maximum la 7-10 zile și este proporțional cu gradul de distrucție celulară.
- **Variații patologice**
 - **Trombocitopeniile.** Apar ca urmare a unei *producții reduse la nivel medular*, de exemplu în inhibițiile medulare datorate iradierii sau administrării de citostatice sau prin *distrugerea lor în periferie*, de către anticorpii antiplachetari, sau în cursul unor infecții.
 - Scăderea numărului de plachete sub 100.000/mm³ induce sindroame hemoragipare caracterizate clinic prin apariția unor pete hemoragice subcutanate - purpura trombocitopenică, iar paraclinic se constată prelungirea timpului de sângerare, test de fragilitate capilară pozitiv, consum de protrombină redus - prin deficit de PL plachetar, retracție deficitară a cheagului.
 - **Trombocitozele.** Sunt secundare unor reacții inflamatorii; afecțiunilor maligne - limfoame, boală Hodgkin etc; bolilor hematologice - anemie posthemoragică, feriprivă, hemolitică etc.
 - **Trombocitopatiile** - definesc alterarea funcțională a plachetelor, numărul și durata de viață rămânând normale. Pot fi congenitale - boala von Willebrand (deficit de factor VIII/vW), trombostenia Glanzmann (deficit de trombostenină) sau dobândite: medicamente, hepatită cronică, hemodializă cronică etc.

d). Volumul trombocitar mediu (VTM) – indică uniformitatea de mărime a populației trombocitare. Este util în diagnosticul diferențial al trombocitopeniei.

Metoda de determinare: este calculat de analizorul automat după următoarea formulă:

$$\text{VTM (fL)} = \frac{\text{PCT (Plachetocrit) (\%)}}{\text{Nr. trombocite (x10}^3\text{/}\mu\text{L)}} \times 1000$$

De asemenea, analizorul automat calculează **lărgimea distribuției trombocitare (PDW)**, asemănător cu calcularea lărgimii distribuției eritrocitare.

Valori de referință

- VTM = 7.4-13 fL sau μm^3 .
- PDW = 8-16,5 coeficient de variație (CV) a volumului trombocitar.

Semnificație clinică – VTM poate fi utilizat, împreună cu PDW, pentru diagnosticul diferențial al trombocitopeniei prin producție scăzută de trombocite, de cea asociată cu o distrucție plachetară crescută.

- **VTM crescut:** trombocitopenie prin distrucție periferică crescută; hipertiroidism; boli mieloproliferative; la fumătorii aterosclerotici (creșterea VTM la fumători a fost propusă ca factor de risc pentru ateroscleroză), deficit de B₁₂ și/sau acid folic; în trombocitozele din bolile mieloproliferative. Este normal în trombocitozele reactive (infecții, tumori, boli inflamatorii etc.).
- **VTM scăzut:** alterarea producției de trombocite: hipoplazia megakariocitară, anemia aplastică, chimioterapie. Odată cu ameliorarea tabloului clinic și refacerea după chimioterapie, VTM crește înaintea creșterii numărului de trombocite.

e). Aprecierea morfologiei plachetare. Se apreciază mărimea, forma, tinctorialitatea, structura și capacitatea de aglutinare pe frotiul de sânge periferic. În mod normal, plachetele sunt grupate în plaje de 15 - 20. Aspectul izolat se întâlnește în trombocitopenii și mai frecvent în trombocitopatii. Centrul apare mai închis la culoare - aspectul mai palid se întâlnește în deficit de granule, mai ales de corpi denși, iar periferia, hialoplasma, este mai deschisă la culoare.

f). Retractiva cheagului (RC). Ca și timpul de sângerare, RC este direct dependentă de numărul de plachete, dar și de funcționalitatea lor - deficitul de trombostenină alterând această fază a hemostazei.

Valori de referință - la 4 ore: 48-64%, iar pentru cheagul plasmatic, peste 85%. În hemofilii, RC este normală.

g). Testarea funcționalității plachetelor

- teste de adeziune plachetară - apreciază capacitatea de retenție a plachetelor pe sticlă;
- teste de agregare a plachetelor sub acțiunea unor agenți agreganți ca: ADP, trombină, collagen, epinefrină, ristocetin, acid arahidonic;
- teste de explorare a factorilor plachetari și a capacității de eliberare a acestora: fosfolipid plachetar 4, beta-tromboglobulină, Tx. A₂ etc.

4.3. Explorarea coagulării

Datorită tehnicilor moderne, explorarea coagulării s-a simplificat foarte mult în ultimii ani. Actualmente, putem obține informații semnificative pentru diagnostic prin efectuarea următoarelor teste:

- **Timpul de tromboplastină parțial activat** (*Activated Partial Thromboplastin Time - aPTT*)
- **Timpul de protrombină sau timp Quick (TQ)** și derivatul acestuia International Normalised Ratio (INR)
- **Timpul de trombină (TT)**
- **Dozarea fibrinogenului**
- **Dozarea separată a factorilor coagulării**
- **Depistarea unui anticoagulant circulant**

Cu ajutorul primelor 4 teste se explorează calea intrinsecă (aPTT), calea extrinsecă (TQ, INR) și calea finală, comună (TT, aPTT, TQ, fibrinogen).

a). Timpul de tromboplastină parțial activată - aPTT (clasic, timpul de cefalină caolin)

Evaluează activitatea factorilor implicați pe calea intrinsecă și comună a coagulării.

Recomandări pentru efectuarea testului

- detectarea deficiențelor congenitale sau dobândite ale factorilor de coagulare care intervin în calea intrinsecă: XII, XI, IX și VIII, HKMW, PK;
- monitorizarea tratamentului cu heparină nefractionată și inhibitori trombinici (hirudin, argatroban);
- suspectarea prezenței de inhibitori, ca de exemplu anticoagulant lupic;
- evaluarea preoperatorie a riscului hemoragic.

Principiul metodei. Se determină timpul de coagulare al unei plasme oxalatate și deplachetate în prezența unei soluții de cefalină. Cefalina este o tromboplastină parțială cu acțiune similară fosfolipidului plachetar. Adăosul de cefalină face ca acest timp să nu fie dependent de numărul sau disponibilitatea de fosfolipid plachetar. *Prin urmare, este normal în sindroamele hemoragice de cauză plachetară.*

Materiale necesare

- seringi, ace, vată, alcool
- sânge venos
- vacutainere cu oxalat sau citrat de sodiu
- cefalină

Metoda – automată, coagulometrică.

Exprimarea rezultatelor - în secunde. **Valori de referință.**

- Normal: **26 - 40 s**
- Interval terapeutic: în cursul heparinoterapiei: de **1.5 - 2.5 ori** valoarea nivelului de control. Proba de sânge pentru aPTT se recoltează la 3 ore după, sau cu o oră înainte de administrarea heparinei.
- **Valori critice** – aPTT >70 s = risc de sângerare spontană.

Interpretarea rezultatelor

- Prolungirea aPTT semnifică un deficit al factorilor care intervin în mecanismul intrinsec al coagulării XII, XI, IX și VIII, HKMW, PK. Este prelungit în hemofilii, parahemofilii, dar și în deficitul sever de FI, FII și V.
- Nu depistează deficiențele de factori VII sau XIII.
- Scurtarea timpului nu are relevanță clinică semnificativă.

b). Timpul de protrombină sau timpul Quick (TQ). Evaluează activitatea factorilor implicați pe calea extrinsecă și comună a coagulării: VII, X, V, FII și I. Factorii coagulării II, VII, IX și X sunt sintetizați în ficat sub influența vitaminei K. Din acest motiv, TQ evaluează atât activitatea factorilor de coagulare dependenți de vitamina K (mai puțin IX), a factorului V și a fibrinogenului, cât și funcția de sinteză proteică a ficatului (figura 4.3.).

Recomandări pentru efectuarea testului

- TQ este testul cel mai comun utilizat pentru monitorizarea terapiei anticoagulante orale, cu inhibitori ai vitaminei K, care fac parte din clasa dicumarinelor (ex. warfarină, sintrom, trombostop); acest timp este sensibil la trei din cei patru factori ai coagulării dependenți de vitamina K (II, VII, X);
- screeningul deficiențelor congenitale sau dobândite ale factorilor II, V, VII, X și fibrinogenului;
- prezența inhibitorilor față de factorii de coagulare respectivi;
- deficit de vitamina K;
- monitorizarea funcției de sinteză proteică a ficatului;
- screeningul preoperator al hemostazei.

Principiul metodei. În prezența tromboplastinei tisulare și a clorurii de calciu, plasma normală coagulează într-un interval de 12-16 secunde, scurtcircuitând prima fază a coagulării.

Metoda - coagulometrică

Exprimarea rezultatelor

- ca timp de coagulare – în secunde;
- ca procent (%) din activitatea normală = activitatea protrombinică (AP);
- ca raport protrombinic ($PR = PT \text{ pacient în sec} / PT \text{ plasmă normală în sec}$);
- ca International Normalized Ratio sau INR. INR reprezintă un raport între TQ al pacientului și TQ al plasmei normale standardizate ISI (International Sensitivity Index).

$$INR = (TQ \text{ pacient} / TQ \text{ plasmă normală})^{ISI}.$$

Valori de referință

- 12 - 16 secunde.
- Activitate protrombinică: 80-100%.
- INR: 0,8 – 1,2
 - La pacienții cu tromboze venoase profunde, fibrilație atrială (FA), accident vascular cerebral trombotic (AVC), infarct miocardic acut, INR trebuie menținut între **2–3**;
 - La cei cu valve mecanice cardiace între **3 – 4** ;
 - Pentru prevenția episoadelor trombotice între **1,5 - 1,9**;
 - Valori peste **4** - risc de hemoragii;
 - INR peste **6** - valori critice: risc mare hemoragic, mai ales la pacienții cu boli gastro-intestinale, HTA, boli renale, cerebro-vasculare, tratament cu antiagregante sau alte medicamente care potențează efectele anticoagulante;
 - Valori sub **2** protecție inadecvată împotriva trombozei. Dozele de anticoagulant nu sunt suficiente, cu excepția situațiilor în care anticoagulantele se administrează preventiv.



- INR este util numai pentru pacienții cu terapie anticoagulantă orală și nu are valoare pentru diagnosticul sau tratamentul celor cu TQ prelungit din alte motive.
- Pentru controlul tratamentului anticoagulant, testarea trebuie făcută cel puțin o dată pe lună.

Interpretare. Alungirea TQ:

- deficit congenital sau dobândit al factorilor II, V, VII, X, foarte rar în deficitul de FIX varianta B_m ;
- anticoagulante orale în scop terapeutic - antivitamină K ;
- hipofibrinogenemie - sub 80 mg/dl;
- afecțiuni hepatice, cu insuficiență de sinteză a factorilor dependenți de vit. K.

Se interpretează în corelație cu aPTT (tabelul 4.2.). TQ prelungit și ceilalți timpi de coagulare normali = deficit de FVII.

c). Timpul de trombină (TT)

Reprezintă timpul necesar coagulării unei plasme citratate și deplachetate la care se adaugă trombină și calciu. Prin adaosul de trombină sunt ocolite calea intrinsecă, extrinsecă și comună a coagulării, motiv pentru care TT reflectă, în principal, interacțiunea dintre trombina exogenă și fibrinogenul endogen.

Recomandări pentru efectuarea testului

- investigarea cauzei unui TQ sau aPTT prelungit;
- diagnosticarea coagulării intravasculare diseminate (CID);
- disfibrinogenemii, hipo-/afibrinogenemii;
- monitorizarea tratamentului cu activatori ai plasminogenului (streptokinaza și urokinaza).

Metoda – coagulometrică.

Valori de referință: ≤ 21s. **Valori critice:** > 60s.

Interpretare. Prolungit în hipofibrinogenemie, disfibrinogenemie sau afibrinogenemie; în prezența produșilor de degradare ai fibrinogenului sau ai fibrinei; în tratamentul cu heparină și cu activatori ai plasminogenului, în afecțiuni hepatice severe, în boli maligne.

Tabel 4.2. Analiza comparativă a timpului Quick și a aPTT			
(N - timp normal; P - timp prelungit)			
TQ	aPTT	Deficit	Atitudine
N	P	FVIII,IX,XI,XII	Se investighează faza I-a a coagulării, prin dozări de factori
P	N	FVII	-
P	P	FI,II,V,X	Se investighează faza I-a și a II-a prin dozarea factorilor implicați

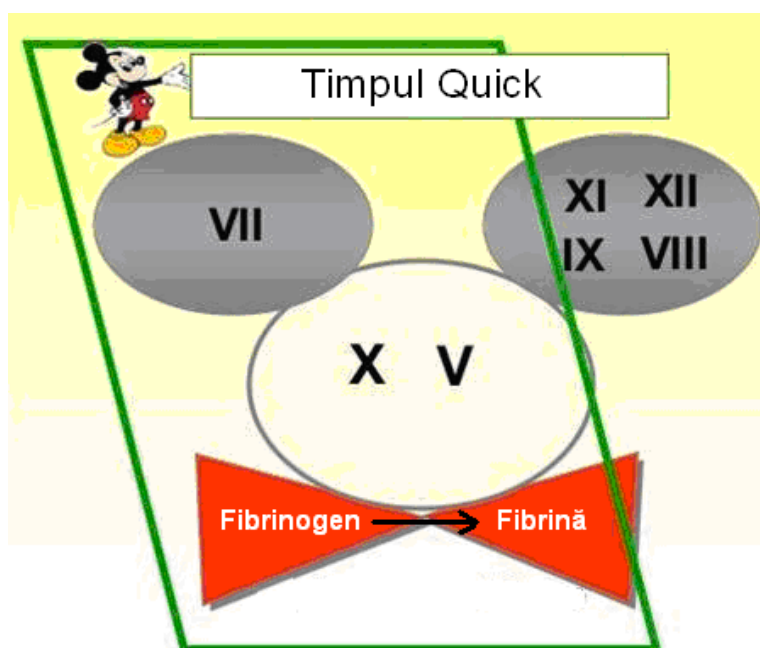


Figura 4.3. Factorii investigați prin TQ

d). Dozarea fibrinogenului. Se poate face prin metode cromatografice sau imunologice.
Valori normale: 200-400 mg/dl

Explorarea inițială, corectă a hemostazei trebuie să fie făcută prin teste care să intereseze: plachetele, calea intrinsecă, calea extrinsecă și calea comună. Cele mai multe informații se obțin prin interpretarea coroborată a aPTT, TQ și TT (tabel 4.3.).

Prezența inhibitorilor coagulării se suspectează în situația în care timpii de coagulare alterați nu se corectează prin adaos de plasmă normală.

Tabel. 4.3. Explorarea inițială a coagulării			
aPTT	TQ	TT	Interpretare
Normal	Crescut	Normal	Deficit de FVII sau inhibitor specific al FVII
Crescut	Normal	Normal	Deficit în FXII, XI, VIII, IX, PK sau inhibitori
Crescut	Crescut	Normal	Deficit pe calea comună sau a mai multor factori cu excepția căii comune; inhibitori sau tratament anticoagulant
Crescut	Crescut	Crescut	Anomalie globală a coagulării sau izolată a fibrinoformării

4.4. Explorarea fibrinolizei

A. Metode indirecte - pun în evidență consecințele fenomenului litic asupra factorilor coagulării și fibrinolizei.

- cercetarea (dozarea) fibrinogenului plasmatic și a altor factori ai coagulării II, V, VII, degradați în timpul fibrinolizei.
- dozarea produșilor de degradare ai fibrinogenului - PDF
- dozarea produșilor de degradare ai fibrinei: D-dimeri (D-D)
- dozarea plasminogenului.

- **Dozarea produșilor de degradare ai fibrinei: D-dimerii.**

D-dimerii sunt fragmente de fibrină generate în urma acțiunii plasminei asupra coagului de fibrină. Creșterea lor este un marker, fie al stării de hipercoagulabilitate (cantitate mare de fibrină), fie al fibrinolizei endogene exacerbate. D-dimerii sunt mai specifici pentru fibrinoliză decât PDF, care detectează în plus și produșii degradării directe a fibrinogenului.

Metode de determinare (cantitative): latex-aglutinare automată cu detecție fotometrică sau metode imunologice – ELISA. Valorile normale depind de metoda practică.

Creșteri ale D-dimerilor sunt asociate cu: CID (fibrinoliza secundară); tromboze arteriale sau venoase; tromboembolism pulmonar; infarctul acut de miocard; accidentul vascular cerebral trombotic.

D-dimerii mai sunt asociați cu trombofilia subclinică, cu stări maligne, ca neoplasmul mamar sau ovarian, cu insuficiența hepatică, cu infecțiile severe.

Valori crescute de DD, considerate fiziologice pot fi întâlnite în sarcina normală, în terapia cu estrogeni, contraceptive orale, la persoane vârstnice, după traumatisme și stres postoperator.

B. Metode directe - evidențiază creșterea puterii fibrinolitice a plasmei sau a serului de cercetat față de diferite substraturi proteice.

- **Timpul de liză al cheagului propriu** - se urmărește timpul în care cheagul de sânge integral sau plasmatic se lizează - liză completă în primele 60 minute = sindrom fibrinolitic supraacut; liză completă după 60 minute = fibrinoliză subacută
- **Timpul de liză al euglobulinelor** = testul von Kaulla - valori normale: >3ore.
- **Timpul de liză al altor substraturi** - cazeină, esteri, arginină, lizină.

Explorarea hemostazei înaintea unei intervenții chirurgicale. Alături de alte investigații paraclinice, testele de hemostază sunt obligatorii pentru siguranța actului operator. Din păcate, de multe ori această explorare se limitează doar la teste cum ar fi timpul de sângerare și timpul de coagulare pe lamă, o astfel de conduită fiind periculoasă.

Se impune o baterie de teste care să vizeze toate fazele hemostazei: *număr de plachete, timp de sângerare, aPTT, TQ, TT*.

4.5. Metode moderne de explorare a hemostazei

a). Metode enzimatic

Principiul. Activitatea serinproteazelor plasmatice poate fi determinată urmărind acțiunea lor clivantă asupra unui substrat sintetic marcat, care poate elibera fragmente active optic = cromofori, capabile să absoarbă lumină. Cantitatea de cromofor eliberată este direct proporțională cu activitatea enzimei.

Cea mai nouă dintre metodele enzimatic este metoda **amidolitică**. Prin această metodă se explorează:

- *Timpul de protrombină*. Se utilizează un substrat sintetic marcat (preparat comercial care mimează substratul original) asupra căruia acționează enzimatic trombina. Rezultă un marker activ optic-cromofor a cărui eliberare este direct proporțională cu activitatea protrombinei.
- *Timpul parțial de tromboplastină activată*.
- Se dozează *factorii plasmatici ai coagulării* : VII, VIII, X, XI, XII, XIII ; *plasminogenul și antitrombina III (ATIII)*.

b). Metode imunologice

- **Metoda nefelometrică**. În general, această metodă permite determinarea concentrației particulelor dintr-o suspensie prin dispersia luminii. Prin această metodă poate fi determinat timpul de protrombină și poate fi dozat fibrinogenul. Principiul determinării timpului de protrombină constă în formarea unui complex antigen (protrombina din plasmă) - anticorp (preparat *in vitro*), care produce dispersia luminii când o rază laser trece prin soluție. Actualmente, această metodă este complet automatizată.
- **Radioimmunoassay - RIA**. Utilizează marcarea cu radioizotopi (^{125}I , ^{131}I , ^3H , ^{14}C , ^{32}P). Radioimunoanaliza se bazează pe reacția reversibilă imunochimică dintre antigen (Ag) și anticorp (Ac), din care rezultă un complex imun solubil Ag-Ac. Legarea Ag-Ac este o reacție cu o înaltă specificitate, deoarece un anumit Ac nu poate lega decât Ag față de care a fost sintetizat. Între cele două proteine, cea de determinat și cea marcată radioactiv, va exista o competiție pentru legarea de anticorp. Cu cât cantitatea de proteină de determinat va fi mai mică, cu atât cantitatea de anticorpi legați de proteina marcată va fi mai mare, iar radioactivitatea, măsurată de un contor pentru radiații gamma, mai mare.

Principiul și tehnica este comună și altor determinări, cum ar fi cele hormonale. Prin această metodă se măsoară o serie de proteine plachetare cum ar fi: f4, beta-tromboglobulina, PGE₂, TXB₂, dar și fibrinogenul.



Studiu individual

1. Utilizând un dicționar medical sau alte materiale de documentare explicați înțelesul următorilor termeni: aderare, agregare, degranulare plachetară, vasoconstricție, substanță proagregantă, trombofilie, tromboembolism, citostatic, boală congenitală, investigație paraclinică, tromboză, anticoagulant, dicumarine, serin protează, cofactor, proenzimă.
2. Explicați de ce în următoarele condiții crește numărul de plachete: efort fizic, după naștere, după intervenții chirurgicale.

FIȘĂ DE LUCRU ÎN LABORATOR

1. Care este rezultatul hemostazei primare?

.....

2. Care sunt evenimentele majore ale hemostazei primare?

.....

3. Schițați reacțiile din cascada coagulării pe cale extrinsecă.

.....

4. Schițați reacțiile din cascada coagulării pe cale intrinsecă.

.....

5. Definiți hemostaza fiziologică.

.....

6. Care sunt explorările paraclinice adresate hemostazei primare?

.....

7. Care sunt testele efectuate pentru explorarea hemostazei?

.....

8. Definiți fibrinoliza.

.....

9. Care este numărul normal de trombocite? Definiți trombocitopenia.

.....

10. Care este valoarea timpului de sângerare?

.....

11. Care sunt valorile de referință pentru aPTT. Interpretați valoarea de 75 secunde pentru acest timp al coagulării.

.....

12. Care sunt valorile de referință pentru timpul de protrombină Quick, în toate formele de exprimare.

.....

13. Interpretați următoarele valori pentru INR

INR = 1; INR > 7; Tratament cu dicumarine (sintrom) și INR = 1,7

.....
14. Care sunt factorii coagulării explorați de timpul de protrombină Quick?

.....
15. Care sunt situațiile în care timpul de protrombină Quick este prelungit?

.....
16. Cum interpretați prelungirea TQ, combinată cu a aPTT. Ce investigații mai cereți?

.....
17. Cum explorăm hemostaza înaintea unei intervenții chirurgicale?

.....
18. Ce informații obținem în urma dozării produșilor de degradare ai fibrinei: D-dimerii?

.....
19. Care este concentrația normală a fibrinogenului? Interpretați o valoare a acestuia de 50 mg/dl. Ce repercusiuni credeți că va avea această valoare asupra timpilor de coagulare?

.....
20. Care este consecința unei hemostaze exacerbate? Cum preveniți o astfel de situație?

.....