***Explorarea hemostazei***

*\* Explorarea hemostazei primare*

*Timpul de sângerare* - se poate determina prin :

- tehnica Duke - se realizează o incizie de 5 mm la nivelul lobului urechii şi se tamponează cu hârtie de filtru la fiecare 30 secunde. Valori normale: sângerarea se opreşte sub 5 minute.

- tehnica Ivy: se aplică manşeta tensiometrului la 40mmHg, şi se realizează o incizie de 10 mm lungime şi 1mm adâncime la nivelul antebraţului. Valori normale: sub 10 minute

*Rezistenţa capilară* - reprezintă presiunea minimă exercitată de manşonul tensiometrului care determină apariţia a 5 peteşii la nivelul plicii cotului. O presiune mai mică de 150 mmHg evidenţiază o fragilitate capilară.

*Teste care explorează trombocitele*:

- numărătoarea trombocitelor (vezi hemoleucograma)

- măsurarea agregării plachetare - se realizează cu ajutorul agregometrului şi se apreciază răspunsul agregant al plachetelor la diferiţi stimuli (adrenalină, ADP, ristocetină)

- măsurarea retracţiei cheagului - se apreciază prin incubarea sângelui coagulat la 37°C timp de 2 ore, fiind influenţată de Ht şi concentraţia fibrinogenului. Valori normale: retracţia cheagului este maximă la 60-90 minute.

- studiul glicoproteinelor membranare - se realizează prin analiza membranei plachetare în gel de poliacrilamidă sau prin imunelectroforeză încrucişată, permiţând evaluarea anomaliilor responsabile de apariţia trombopatiilor constituţionale.

- studiul granulelor intraplachetare: granulele dense (microscopie electronică, microscopia cu fluorescenţă), granulele alpha (dozarea β-tromboglobulinei, F4p prin metoda RIA).

- măsurarea duratei de viaţă a trombocitelor şi aprecierea sechestrării plachetare - se realizează prin marcare cu Cr sau In radioactiv.Valori normale pentru timpul de înjumătăţire a trombocitelor: 4-5 zile.

*Teste care explorează factorii plasmatici ai hemostazei primare*: fibrinogenul, factorul von Willebrand (determinarea agregării trombocitare la ristocetină, dozarea cofactorului ristocetinei (VIII R:RCo), determinarea antigenelor legate de FVIII (VIII:Ag), studiul calitativ al antigenelor).

*Determinarea anticorpilor anti-trombocitari*

 Anticorpii anti-trombocitari pot fi orientaţi impotriva antigenelor trombocitare proprii (anticorpi autoimuni) sau împotriva antigenelor trombocitare exogene (anticorpi alloimuni). Anticorpii anti-trombocitari pot fi detectaţi în purpura trombocitopenică autoimună, trombocitopenia alloimună neonatală, purpura posttransfuzională, trombocitopenia refractară la transfuzia de trombocite, trombocitoepenia indusă de medicamente, trombocitopenia indusă de heparină.

 Se pot determina anticorpii anti-trombocitari liberi şi anticorpii anti-trombocitari legaţi, fiind utili pentru investigarea trombocitopeniilor care nu sunt induse de afectarea trombocitopoiezei sau hipersplenism, stări clinice care sugerează existenţa trombocitopeniei indusă de anticorpi sau necesitatea administrării de transfuzii cu concentrat trombocitar.

\**Explorarea coagulării*

*Explorarea căii intrinseci a coagulării*

*-* *timpul Howell* - se determină timpul de coagulare al plasmei citratate şi recalcifiate. Valori normale: 1'20'' -2'20''. Valorile pot fi influenţate de anomaliile plachetare.

- *timpul de tromboplastină parţială activat* sau timpul de cefalină + activator (TTP, aPTT, TCA) - se realizează prin adaosul la plasma citratată de fosfolipide (cefalină) şi a unui activator (caolin). Valori normale: 25-40'', sau mai corect se face interpretarea faţă de o probă martor, TTP evaluat nu trebuie să depăşească cu mai mult de 10'' TTP martor. TTP este prelungit în deficitul de factori :VIII, IX, XII, XI, X, V, II, I, afecţiuni hepatice, tratament cu heparină.

- *dozarea diferenţiată a anumitor factori plasmatici*: VIII, IX, XI, XII etc. utilizând plasma deficitară în factorul respectiv ca reactiv.

*Explorarea căii extrinseci a coagulării*

*- timpul de protrombină Quick* - se realizează prin adausul de tromboplastină şi calciu la plasma citratată. Se determină prin metoda coagulometrică.Valori normale: 12-18 '' sau 70-100% procente de activitate protrombinică faţă de o plasmă martor, sau ca INR (International Normalized Ratio) = TQ studiat/TQnormal = 1-1,4. Este prelungit în deficitul factorilor aparţinând complexului protrombinic (VII, X, V, II), insuficienţa hepatică, tratament cu antivitamine K. În deficitul de FVII timpul Quick este prelungit iar toţi ceilalţi timpi de coagulare sunt normali.

- *dozarea diferenţiată a factorilor plasmatici* aparţinând căii extrinseci prin metode enzimatice, imunologice sau folosirea unor plasme standard deficitare în factorii respectivi.

*Explorarea fibrinoformării*

*- timpul de trombină (TT)* - este timpul necesar coagulării unei plasme citratate la adausul de trombină şi calciu. Se determină prin metoda coagulo- metrică.Valori normale: 20''. Timpul de trombină este prelungit în hipofibrinogenemii, disfibrinogenemii, în prezenţa PDF-urilor, în tratamentul cu heparină.

- *dozarea fibrinogenului* - se poate realiza utilizând sânge venos, recoltat à jeun, centrifugat, prin metoda coagulometrică. Valori normale: 200-400 mg%. Valori scăzute apar în creşterea consumului de fibrinogen (CID, fibrinoliză), scăderea sintezei de fibrinogen (afecţiuni hepatice severe), terapie trombolitică, terapia cu L-asparaginază, deficite congenitale de fibrinogen, consumul moderat de alcool. Valori crescute se întâlnesc în cadrul răspunsului de fază acută (infecţii, inflamaţii, tumori, traumatisme, distrucţii celulare întinse, arsuri), ca răspuns compensator la pierderea de proteine (sindrom nefrotic, mielom multiplu), ciroză hepatică, diabet zaharat, obezitate.

*- testele de solubilitate a cheagului* - evaluează solubilitatea cheagului de fibrină în uree sau acid monocloracetic, fiind pozitiv în deficitul de FXIII.

*Explorarea fibrinolizei*

*- timpul de liză a cheagului de sânge diluat* - se măsoară perioada de timp în care se produce liza cheagului diluat.Valori normale: 150-300'.

- timpul de liză a cheagului nediluat: prezenţa în exces a inhibitorilor în sângele integral face ca acest test să nu fie relevant decât în deficitul sever de α2-antiplasmină. Valori normale: peste 24 ore.

- *timpul de liză a cheagului euglobulinic (testul von Kaulla, TLCE)* - este un test nespecific de screening care evaluează activitatea fibrinolitică. Se utilizează sânge venos, recoltat à jeun, centrifugat. Valori de referinţă: bărbaţi: 120-180'; femei:150-200'. Alungirea TLCE apare în deficite ale sistemului fibrinolitic asociate cu hipofibrinoliză. Scurtarea TLCE evidenţiază creşterea activităţii fibrinolitice în fibrinoliza primară şi secundară.

- scăderea fibrinogenului plasmatic poate evidenţia o eliberare masivă de plasmină.

- timpul de trombină şi reptilază sunt prelungite în cazul prezenţei produşilor de degradare a fibrinogenului şi fibrinei:

- *D-dimerii* - reprezintă un marker al stării de hipercoagulabilitate şi al fibrinolizei secundare. Valori normale: < 0,5 μg/ml. Valori crescute apar în CID, tromboze arteriale sau venoase, injurie renală, insuficienţă hepatică, embolism pulmonar, preeclampsie, infarct miocardic, inflamaţii, infecţii severe, tumori.

- *Activitatea plasminogenului* - determinarea este utilă pentru evaluarea fibrinolizei (coroborat cu fibrinogenul, PAI-1, D-dimeri), evaluarea pacienţilor cu istoric de tromboze şi teste negative pentru factorii de risc trombotic obişnuiţi, monitorizarea terapiei trombolitice. Se utilizează sânge venos, recoltat pe citrat de sodiu, centrifugat. Pentru determinare se foloseşte testul cromogenic, în care plasma de studiat este mixată cu un exces de streptokinază în prezenţa fibrinogenului, formându-se un complex plasminogen-streptokinază care converteşte un substrat cromogenic. Valori normale: 80,2 - 132,5%.

- *determinarea inhibitorului activatorului plasminogenului 1(PAI-1)* - este utilă pentru evaluarea fibrinolizei, riscului trombotic, evaluarea nivelului ereditar de PAI-1, evaluarea riscului de boală veno-ocluzivă asociată transplantului medular. Se utilizează sânge venos, recoltat pe citrat de sodiu, centrifugat; determinarea se face prin metoda imunoenzimatică.Valori normale: 4-43 ng/mL