

## **HEMOSTASIA E SEUS PRINCIPAIS TESTES LABORATORIAIS**

**Livia Prado Brito Kikuta**

Farmacêutica Generalista

**RESUMO** – O mecanismo pelo qual o organismo mantém o sangue circulante pelos vasos é conhecido como hemostasia e uma série de eventos ocorrem para que o corpo se recupere quando há algum tipo de injúria que abale este equilíbrio. O presente artigo revisa aspectos da hemostasia, coagulação, fibrinólise e os principais testes laboratoriais envolvidos na avaliação das desordens relacionadas à coagulação.

**Palavras-chave:** Hemostasia, coagulação, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativado.

**ABSTRACT** – The mechanism by which the body maintains the circulating blood vessels is known as homeostasis and a series of events occur in which the body to recover when there is some type of injury that disturb this balance. This article reviews aspects of hemostasis, coagulation, fibrinolysis and the main laboratory tests involved in the evaluation of disorders related to coagulation.

**Keywords:** Hemostasis, coagulation, prothrombin time, activated thromboplastin time.

### **INTRODUÇÃO**

O sangue é um líquido no qual estão suspensos diversos tipos celulares. Constitui o principal sistema de transporte do corpo, de modo, que todas as funções que lhes são atribuídas são inteiramente dependentes da circulação. Portanto, as funções do sangue são estreitamente ligadas às do sistema circulatório, que se encarrega de criar a energia necessária para que o sangue circule e seja, assim, distribuído por todo o organismo. (BOZZINI, 2004 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

Dentre as funções do sangue, podemos destacar: a) função respiratória; b) função de nutrição; c) função de excreção; d) função de defesa; e) função de regulação e equilíbrio hídrico; f) função de regulação do valor de pH; g) função de regulação da pressão osmótica; h) função de transporte hormonal; i) função de distribuição do calor; função da pressão sanguínea (KOLB *et al*, 1984 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007 ).

As células do sangue e compartimentos líquidos do corpo ajudam nessas funções. Os leucócitos participam do processo de defesa imunológica do organismo; os eritrócitos contêm hemoglobina, a qual transporta oxigênio e dióxido de carbono; os constituintes extracelulares incluem a água, eletrólitos, proteínas, glicose, enzimas e

hormônios; nesse ambiente, as células funcionam em seu ponto ótimo (CARLOS E FREITAS, 2007).

A parte celular do sangue e também componentes extracelulares se mantêm dispersos na porção líquida que é denominada plasma.

Muitas características atribuídas ao plasma são funções dos seus componentes protéicos, os quais auxiliam na manutenção da pressão osmótica intravascular, no transporte de vários constituintes plasmáticos, no mecanismo de coagulação e na proteção do corpo pelos anticorpos humorais (BANKS, 1991 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

## **HEMOSTASIA**

A hemostasia é o mecanismo que mantém a fluidez do sangue pelos vasos. Inclui o controle da hemorragia e a dissolução do coágulo, por meio de eventos mecânicos e bioquímicos (SANTOS, 2005). Eventos estes que interagem para reduzir a perda de sangue e promover a reparação tecidual.

Embora os processos aconteçam quase que simultaneamente, a hemostasia é para fins didáticos dividida em primária, secundária e terciária.

Este mecanismo é resultado do equilíbrio entre agentes anticoagulantes e pró-coagulantes que envolvem plaquetas, vasos sanguíneos, fatores de coagulação, proteínas da fibrinólise e alguns anticoagulantes naturais.

A iniciação do processo de coagulação depende da exposição do sangue a componentes que, normalmente, não estão presentes no interior dos vasos, em decorrência de lesões estruturais (injúria vascular) ou alterações bioquímicas (por ex., liberação de citocinas). Qualquer que seja o evento desencadeante, a iniciação da coagulação do sangue se faz mediante expressão de seu componente crítico, o fator tecidual (FT), e sua exposição ao espaço intravascular (FRANCO, 2001).

A hemostasia primária ocorre após a lesão do vaso uma constrição no local e diminuição do fluxo sanguíneo. Há adesão e agregação de plaquetas para formação de um tampão plaquetário. Em seguida, na chamada hemostasia secundária, uma série de eventos subseqüentes ocorrem para formação de uma rede de fibrina que impede a saída das células e outros componentes através de um coágulo que interrompe a hemorragia.

Na hemostasia terciária ou fibrinólise é ativada na mesma ocasião da coagulação, existindo um equilíbrio fisiológico entre as mesmas, onde a plasmina atua degradando a fibrina e desfazendo o coágulo formado (SANTOS, 2005).

## **HEMOSTASIA PRIMÁRIA**

Imediatamente após a ruptura de um vaso sanguíneo, o traumatismo da própria parede do vaso provoca a contração do vaso (GUYTON & HALL, 2002). A

vasoconstrição resultante da lesão de um vaso sanguíneo permite o controle imediato da hemorragia (BOZZINI, 2004 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

A ruptura do endotélio do vaso sanguíneo libera substâncias que são estimulantes para que ocorra o primeiro fenômeno fisiopatológico no que concerne à plaqueta (SIQUEIRA, 2001).

A adesão é a aderência das plaquetas no local da lesão. Esta adesão plaquetária ao endotélio é efetuada por meio de seus receptores de superfície para o colágeno e fator de Von Willebrand que, portanto liga plaqueta ao colágeno do subendotélio (SANTOS, 2005).

Uma vez ocorrida à adesão plaquetária, suas proteínas contráteis liberam grânulos contendo múltiplos fatores ativos tornando-as viscosas e aderem ao colágeno nos tecidos e ao fator de Von Willebrand, que se dissemina por todo o plasma (GUYTON & HALL, 2002). No processo de agregação ocorre uma reação secretora, na qual as plaquetas secretam alguns dos produtos armazenados nos seus grânulos, que incluem o ADP, serotonina, histamina, fosfolipídios plaquetários e enzimas que provocam a formação de tromboxana A e ADP ativam outras plaquetas, fazendo com que elas adiram ao agregado original (BANKS, 1991 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

## HEMOSTASIA SECUNDÁRIA

A hemostasia secundária consiste em uma série de reações entre proteínas que ocorrem em sequência. É uma série de etapas de ativação sequenciais, onde o substrato para cada enzima (ou complexo enzimático) é uma pró-enzima que é ativada para atuar na próxima etapa da reação, sequência de reações denominada “cascata” (GUYTON & HALL, 2002; KERR, 2003 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

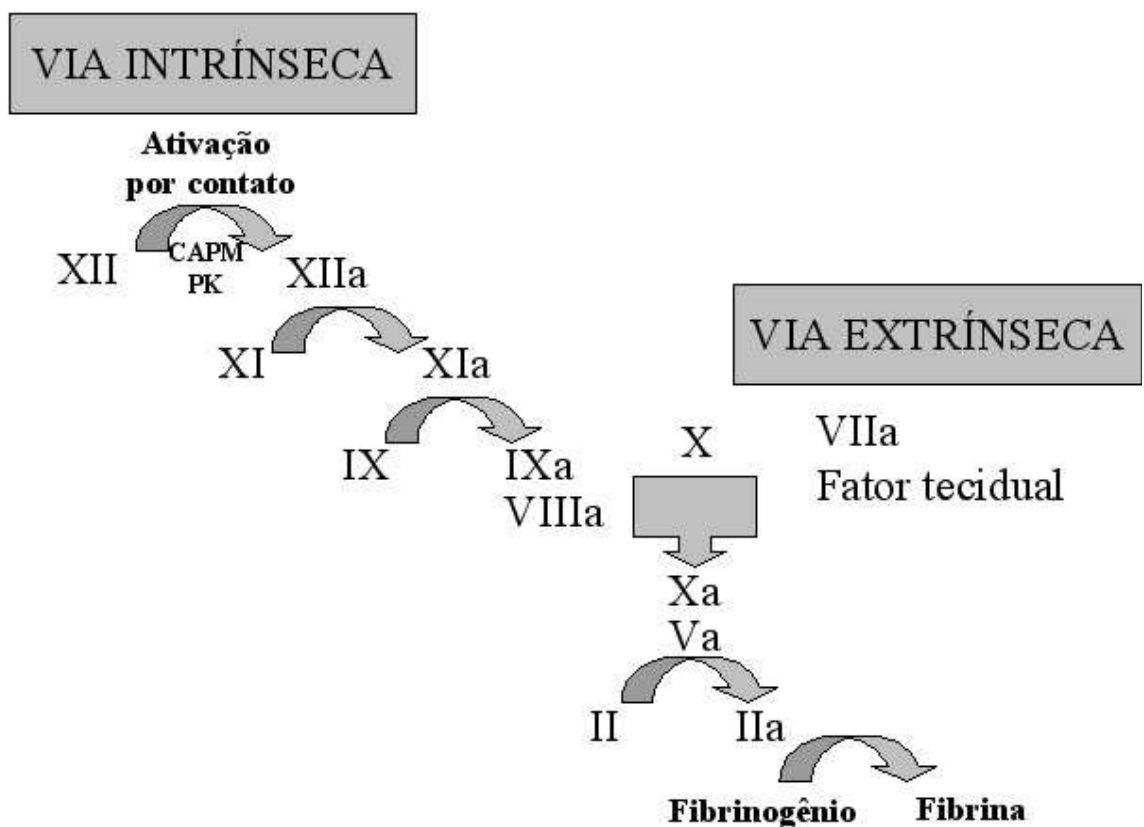
As proteínas que atuam na coagulação, os chamados “fatores de coagulação” estão dispostos na Tabela 1. Estes são designados, em sua maioria, por algarismos romanos. Para indicar sua forma ativada do fator, acrescenta-se a letra “a” minúscula após o algarismo (GUYTON & HALL, 2002).

Tabela 1. Proteínas que participam da cascata de coagulação

<b>Proteína (Fator)</b>	<b>Nome</b>
I	Fibrinogênio
II	Protrobina
III	Tromboplastina tecidual
IV	Cálcio
V	Proacelerina
VII	Proconvertina
VIII; C	Fator anti-hemofílico

IX	Fator de Christmas
X	Fator de Stuart-Prower
XI	Antecedente da tromboplastina do plasma
XII	Fator de Hageman
XIII	Estabilizador da fibrina
Precalicroína	Fator de Fletcher
Cininogênio de alto peso molecular	Fator de Fitzgerald

Esta cascata é dividida didaticamente em dois mecanismos ou vias: intrínseco e extrínseco conforme pode ser verificado na figura 1.



**Figura 1.** Esquema da cascata da coagulação, proposto na década de 1960, com a divisão do sistema de coagulação em duas vias. CAPM: cininogênio de alto peso molecular; PK: pré-calicroína. Fonte: Franco, 2001.

Tanto a via intrínseca quanto a via extrínseca convergem para a via comum da cascata de coagulação que tem na geração de trombina uma etapa rigorosamente fundamental, pois a trombina perpetua as vias intrínsecas e extrínsecas da coagulação, converte o fibrinogênio para a formação da rede de fibrina, promove ativação plaquetária além de deflagrar resposta inflamatória vascular e ativação de citoquinas, um importante elo entre coagulação, choque, infecção e resposta inflamatória sistêmica (SOARES, 2001).

### **Mecanismo ou Via intrínseca**

Tem início quando o sangue entra em contato com uma superfície diferente do endotélio normal e de suas células circulantes, esse corrido juntamente com a presença de caliceína e cininogênio de alto peso molecular geram ativação do fator XII. Quando atuante o fator XII ativa o fator XI que por sua vez atua sobre o fator IX ativando-o enzimaticamente. O fator IXa, na presença do fator VIII ativa o fator X da coagulação.

### **Mecanismo ou Via extrínseca**

Ocorre devido à presença de uma proteína denominada fator tecidual que é liberada quando há injúria vascular. A lesão vascular também libera tromboplastina, que ativa o fator VII. O fator VII, o cálcio e o fator III através da formação de um complexo ativam o fator X.

### **Mecanismo ou Via comum**

A via comum se inicia com ativação do fator X, pela combinação de várias substâncias, fator III, cálcio, fator VII e fosfolipídeos teciduais na via extrínseca e, da mesma forma, o FP3, fator IX e o fator VII na via intrínseca (BANKS, 1991 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

Os fosfolipídios teciduais, o fator X ativado e o fator V trabalham juntos formando um complexo ativador de protrombina. Ocorre ativação do fator II (protrombina) transformando-o em trombina, cuja principal função é a conversão do fibrinogênio (fator I) em fibrina.

A transformação ou “estabilização” da fibrina solúvel em um coágulo de fibrina insolúvel é catalisada pelo fator XIII, na presença de cálcio, onde o fator XIII normalmente circula no plasma sob a forma de proenzima inativa e é convertido em sua forma ativa pela trombina (SWENSON, 1996 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

## **HEMOSTASIA TERCIÁRIA**

Tão importante quanto à formação do coágulo de fibrina, que bloqueia a perda de sangue e repara a parede vascular lesada, é a remoção do coágulo sanguíneo, para que prossiga a circulação sanguínea normal. A remoção do coágulo depende de dois processos, a retração do coágulo e a degradação da fibrina insolúvel (fibrinólise) (SWENSON, 1996 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

Os fatores fibrinolíticos começam a ser sintetizados no início do processo da hemostasia e coagulação com o objetivo de destruir a fibrina após o restabelecimento do tecido lesado (NAOUM, 2010).

A fibrinólise que é a dissolução do coágulo de fibrina ocorre através da digestão da mesma por uma enzima chama plasmina que circula no plasma em sua forma inativa que é o plasminogênio.

Na fibrinólise ocorrem dois eventos principais, a geração de plasmina a partir do plasminogênio sob a ação do PAI-1 e a ação de lise da plasmina sobre a fibrina.

Quando a fibrina é degradada em fragmentos menores, os restos de plaquetas e outros materiais celulares são liberados na malha de fibrina e removidos pelo sistema retículo endotelial (SWENSON, 1996 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

Embora a plasmina degrade não somente a fibrina, mas, também, o fibrinogênio, fator V e fator VIII, em condições fisiológicas, a fibrinólise ocorre como processo que é altamente específico para a fibrina, portanto de ativação localizada e restrita, e não sistêmica, cumprindo, assim, sua função de remover o excesso de fibrina do intravascular de modo equilibrado. Esta especificidade dependente de fibrina é resultado de interações moleculares específicas entre os ativadores do plasminogênio, a fibrina, e os inibidores da fibrinolise (FRANCO, 2001).

Vários inibidores fisiológicos do sistema fibrinolítico localizados no sangue circulante, nas células sanguíneas nos tecidos e na matriz extracelular. Eles podem inibir a plasmina diretamente ou impedir a ativação de plaminogênio. São descritos quatro inibidores do sistema fibrinolítico: inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1), inibidor do ativador de plasminogênio 2 (PAI-2),  $\alpha_2$ -antiplasmina e inibidores fibrinolíticos pela trombina (SILVA E HASHIMOTO, 2006).

PAI-1 está presente no sangue circulante e tem ação sobre ativador tecidual de plaminogênio (t-PA) e sobre ativador de plasminogênio tipo uroquinase (u-PA). A secreção de PAI-1 é estimulada por citocinas, fatores de crescimento e resposta inflamatória. PAI-2 é uma alfa globulina e sua função no sistema fibrinolítico não está bem esclarecida.  $\alpha_2$ -antiplasmina é o inibidor da plasmina, tem função de inibição da plasmina e previne a degradação sistêmica do plasminogênio. O TAFI é ativado pelos complexos trombina-trombomodulina, meizotrombina-tombomodulina, pela plasmina e pela trombina. A ordem em que os ativadores do TAFI foram escritos corresponde à eficiência de ativação, sendo o primeiro mais ativo (SILVA E HASHIMOTO, 2006).

A regulação da fibrinólise se produz por liberação de um ativador tecidual, depuração hepática do ativador de plasminogênio, inibição da ativação do plasminogênio e ação da antiplasmina (BOZZINI, 2004 *apud* CARLOS E FREITAS, 2007).

## **TESTES LABORATORIAIS RELACIONADOS À HEMOSTASIA**

A avaliação para as desordens hemostáticas se dá entre outros através dos testes laboratoriais.

Não há dúvida quanto às limitações de sensibilidade existentes nos testes laboratoriais quando se desejam avaliar as desordens da coagulação, principalmente as

que impõem risco hemorrágico. É missão ousada reproduzir *in vitro* a complexidade do processo fisiológico da hemostasia, que envolve interação de componentes celulares (célula endotelial e plaquetas) e plasmáticos (uma série de enzimas e proteínas), capaz de modular de maneira precisa tanto a formação do tampão hemostático (coagulação) como sua dissolução (fibrinólise) (COLOMBINI, 2007)

Uma importante ferramenta para o estudo da hemostasia foi à elaboração da hipótese da cascata de coagulação composta pelas diferentes proteínas (fatores de coagulação) que divididos em vias extrínseca, intrínseca e comum permitiram uma melhor ilustração do processo hemostático representados pelos tempos de tromboplastina parcial ativada (TTPA) e protrombina (TP).

Juntos, TP e TTPA possibilitam inferir a existência de deficiências funcionais dos fatores da coagulação e a presença de inibidores específicos a alguns destes. Ambos não conseguem monitorar os eventos iniciais relacionados à formação do coágulo, de grande importância fisiológica, mas espelham os eventos tardios, conseguindo cumprir com seu papel. A triagem das alterações relacionadas à hemostasia primária fica a cargo dos testes que quantificam as plaquetas e avaliam, ou tentam avaliar, sua função *in vivo* (Tempo de Sangramento – TS) (COLOMBINI, 2007).

## **AVALIAÇÃO DAS PLAQUETAS**

Devem ser avaliadas quantitativa e qualitativamente, pois desta forma verifica-se se há número aumentado ou diminuído das mesmas e se, suas formas e tamanhos estão de acordo com as referências.

## **TEMPO DE SANGRAMENTO (TS)**

A incisão num vaso sanguíneo de superfície faz com que ocorra a formação do tampão plaquetário num espaço de tempo avaliado cronometricamente até que ocorra a parada do sangramento. O método é contestado devido à profundidade do corte nos diversos locais do teste (ponta de dedo, lóbulo da orelha e antebraço) (NAOUM, 2010).

## **TEMPO DE PROTROMBINA (TP)**

O teste através da adição de um fator tecidual oferece indícios de como está funcionando o sistema extrínseco de coagulação do paciente, verificando, por exemplo, protrombina, fator V, VII, X, I e II.

O reagente do TP é a tromboplastina, que faz o papel d fator tecidual. O cálcio é adicionado à tromboplastina (tromboplastina cálcica), porque ele foi retirado pelo anticoagulante e, sem o cálcio, o coágulo não se forma. A tromboplastina ativa o fator

VII, que quando ativado ativa o fator X, que transforma a protrombina em trombina, que atua sobre o fibrinogênio formando o coágulo de fibrina (SILVA E HASHIMOTO, 2006).

Quando paciente realiza o TP com finalidade pré-operatória ou para investigação de coagulopatia, o resultado deve ser expresso em segundos, juntamente com o valor de controle normal. O valor de referência é o controle normal  $\pm$  2 segundos. Quando o paciente faz uso de anticoagulante oral, o resultado do TP do paciente deve ser expresso em segundos juntamente com o valor do controle normal e do RNI (relação normatizada internacional). O RNI é calculado a partir de uma relação de tempos entre o TP do paciente e o TP do controle normal elevado ao valor do ISI.

### **TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA (TTPA)**

O teste avalia o mecanismo intrínseco e comum da coagulação porque o fator VII não é ativado, medem-se os fatores XII, XI, IX, VIII, X, V, II e I. É realizado utilizando-se cefalina, e é o tempo que o plasma leva para formar coágulo de fibrina após adição de cefalina, caulim e cálcio.

O resultado do TTPA do paciente deve ser dado pelo tempo em segundos e deve ser comparado ao valor de tempo do controle normal. É um exame realizado para pacientes em situação pré-operatória e para investigação de coagulopatias.

### **TEMPO DE TROMBINA (TT)**

O TT permite avaliar as deficiências de fibrinogênio e a presença de anticoagulantes, como heparina, que é um antitrombina. O tempo de formação do coágulo é bastante rápido, o controle normal fica em torno de 10 a 15 segundos, esse tempo pode estar prolongado quando houver fibrinólise, pois a plasmina cliva o fibrinogênio em fibrina.

### **FIBRINOGENIO**

A dosagem de fibrinogênio torna-se importante em situações de consumo de fatores de coagulação, como na CIVD (coagulação intravascular disseminada) ou situações de ativação do sistema fibrinolítico. O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda que está aumentado em situações inflamatórias e durante gestação (SILVA E HASHIMOTO, 2006).

O tempo para formação do coágulo é convertido em concentração de fibrinogênio e o valor de referência varia de 200-400mg/dl.



## **REFERÊNCIAS**

- CARLOS M. M. L.; FREITAS P. D. F. S. Estudo cascata coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, volume 1, número 2, páginas 49-55, 2007.
- COLOMBINI M. P. Avaliação pré-operatória relacionada ao risco hemorrágico em procedimento eletivo. **Educação Continuada Saúde**, São Paulo, páginas 135-138, 2007.
- FRANCO R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. In: SIMPÓSIO HEMOSTASIA E TROMBOSE, 34, 2001, Ribeirão Preto: páginas 229-237.
- GUYTON A. C.; HAAL J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**, 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- NAOUM P. C. Hemostasia Coagulação e Fibrinólise. São José do Rio Preto, 2010.
- SANTOS A. P. Avaliação da hemostasia e distúrbios da coagulação. In: II SIMPOSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2005, Porto Alegre: **Anais**. páginas 46-61.
- SILVA P. H.; HASHIMOTO Y. **Coagulação – Visão Laboratorial da Hemostasia Primária e Secundária**, 1 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2006.
- SIQUEIRA C. Fisiologia da Coagulação. **Revista SOCERJ**, Rio de Janeiro, volume XIV, número 1, páginas 15-20, 2001.
- SOARES V. E. Coagulação e Choque. **Revista SOCERJ**, Rio de Janeiro, volume XIV, número 2, páginas 95-104, 2001.

