

PROCESSO FISIOLÓGICO E AVALIAÇÃO LABORATORIAL DA HEMOSTASIA

¹*Kaliny Xavier da Guarda*

Biomédica, Especialista em Epidemiologia e Saúde. Curso de Pós-graduação em Hematologia Essencial e Prática da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto/SP

RESUMO

O sangue é constituído por células e demais elementos acelulares que fazem parte do plasma. Qualquer rompimento do processo fisiológico que mantém o sangue circulante deve ser imediatamente controlado por mecanismos hemostáticos. A hemostasia pode ser então definida como um conjunto de funções do sangue circulantes nos vasos, capazes de interromper a hemorragia. Estas funções especializadas do sangue devem estar em equilíbrio constantes, pois em casos de sangramentos, os locais devem ser vedados pela formação e deposição dos coágulos. Quando acontece uma lesão vascular, em resposta a hemostasia primária, ocorre a formação do trombo plaquetário que têm efeito hemostático transitório. E em seguida a ativação dos fatores de coagulação, gerando a trombina e conseqüentemente a rede de fibrina, essa será dissolvida posteriormente pela fibrinólise garantindo o fluxo sanguíneo normal. Para entender o processo fisiológico da hemostasia, é necessário compreender o complexo mecanismo do sistema hemostático. Portanto, este artigo aborda os diversos mecanismos da hemostasia e do sistema fibrinolítico e seus componentes.

Palavras-chaves: coagulação sanguínea; hemostasia; fibrinólise; testes de coagulação

ABSTRACT

The blood consists of cells and other acellular elements that form part of the plasma. Any disruption of the physiological process that keeps circulating blood should be immediately controlled by hemostatic mechanisms. Hemostasis can then be defined as a set of blood functions circulating in the vessels, capable of interrupting bleeding. These specialized blood functions must be in constant equilibrium, because in cases of bleeding, the sites should be sealed by the formation and deposition of the clots. When a vascular lesion occurs, in response to primary hemostasis, platelet thrombus formation occurs, which has a transient hemostatic effect. And then the activation of the coagulation factors, generating thrombin and consequently the fibrin network, will be dissolved later by fibrinolysis, guaranteeing normal blood flow. To understand the physiological process of hemostasis, it is necessary to understand the complex mechanism of the hemostatic system. Therefore, this article addresses the various mechanisms of hemostasis and the fibrinolytic system and its components.

Keywords: blood clotting; hemostasis; fibrinolysis; coagulation tests

INTRODUÇÃO

O sangue é um tecido conjuntivo líquido, constituído por células e demais elementos acelulares que fazem parte do plasma. O sangue circula através de vasos pelo organismo e constitui assim o principal sistema de transportes do corpo, denominado sistema

¹ **Correspondência:** Kaliny Xavier da Guarda
Rua Paranaíba, 52 Setor Aeroporto – Jataí/GO
Email: kalinyayalla@gmail.com

circulatório¹. Qualquer rompimento desse processo fisiológico, deve ser imediatamente, em condições normais, controlado por mecanismos hemostáticos.

A hemostasia é um mecanismo complexo de processos regulados para manutenção do fluxo sanguíneo, evitando perdas excessivas de sangue ou obstrução desse fluxo pela formação de trombos. Esse mecanismo hemostático pode ser dividido em um conjunto de três processos: hemostasia primária, hemostasia secundária (coagulação sanguínea) e fibrinólise, que devem ser regulados com máxima eficiência, e para isso a parede vascular, as estruturas e os agentes vasoativos relacionados a vasoconstrição e a vasodilatação, assim como os fatores de adesão e agregação das plaquetas para formar o tampão e à ativação dos fatores de coagulação que formam os coágulos de fibrina devem estar em total harmonia^{2,3}.

COAGULAÇÃO

Para explicar o processo fisiológico da coagulação sanguínea, em 1964, Macfarlane e Davie & Ratnoff propôs a clássica cascata da coagulação. Esse evento ocorre, pela ativação proteolítica, onde proteases plasmáticas ativam em sequência zimógenos, também conhecidos como fatores de coagulação, formando a trombina que converte a molécula de fibrinogênio solúvel em fibrina insolúvel para produção de coágulo^{2,4,5,6}.

Por muito tempo, o modelo de cascata de coagulação foi bem aceito para entendimento desse processo. E essa proposta divide todo o processo em via extrínseca – com elementos do espaço intravascular e também fora do vaso); via intrínseca (iniciada com elementos do espaço intravascular) e essas duas vias convergem em uma via comum a partir da ativação do fator X⁷. Na via extrínseca, após lesão tecidual, há exposição do fator tecidual que se liga ao cálcio (Ca), esse complexo se liga ao fator VIIa, quebrado pela trombina, essa liberada pela ativação plaquetária (primeiro mecanismo quando ocorre lesão) ativando o fator VIIa. Esse complexo formado pelo fator tecidual, Ca e fator VIIa, ativa fator Xa e IXa. Na via intrínseca, o fator XII após ser ativado, quando entra em contato com superfície de cargas negativas, na presença de pré-caliceína, uma serinoprotease juntamente com cininogênio de alto peso molecular (HMWK), um cofator não enzimático, ativa o fator XIa, processo denominado de ativação por contato. O fator XIa e o VIIa ativa o fator Ica. A trombina liberada, após ser produzida pela ativação plaquetária, ao ativar fator VIIIa em conjunto com fator IXa, ativa também fator X. Essa retroalimentação é necessária

para formação de trombina. No ponto de ativação do fator Xa, as vias se convergem (via comum). E o fator Xa junto ao fator Va (também ativado pela trombina), forma o complexo fator Xa, Va e Ca que converte a protrombina em trombina (fator IIa). A trombina converte fibrinogênio em fibrina formando polímeros de fibrina, pois apenas a trombina da ativação plaquetária não é suficiente para a formação de coágulo (rede de fibrina). Mas a trombina liberada a partir da ativação plaquetária ativa fator VIIIa. A trombina também ativa fator XIIIa junto com Ca, pois a ponte para ligação de vários polímeros de fibrina que irão formar o coágulo só ocorre pela ação do fator XIIIa ^{2,7}.

Esse modelo de cascata de coagulação pode ser observado na formação do coágulo in vitro, portanto, as alterações do processo de coagulação in vivo não podem ser explicadas nesse modelo de cascata.

O processo de coagulação sanguínea no plasma pode ser ressaltado na interação dos fatores plasmáticos da coagulação com as superfícies celulares³. Os fatores de coagulação (TABELA 1) foram enumerados em algarismos romanos de I a XIII, sendo que cada número que corresponde a seu fator é designado de acordo a ordem de descoberta do mesmo⁶.

Tabela 1. Componentes envolvidos no processo de coagulação. (N/A, não se aplica).

Componente de coagulação	Nome	Nível hemostático	Meia-vida	Função
Fator I	Fibrinogênio	50 mg/dL	4-6 dias	Precursor
Fator II	Protrombina	20%	2-3 dias	Zimogênio
Fator III	Fator tecidual	N/A	N/A	Cofator
Fator IV	Íon Cálcio	N/A	N/A	Cofator
Fator V	Fator lábil/ Pró-acelerina	25%	12-36 horas	Pró-cofator
Fator VII	Fator estável/Pró-convertina	20%	4-6 horas	Zimogênio
Fator VIII	Fator anti-hemofílico	30%	8-12 horas	Pró-cofator
Fator IX	Fator de Christmas	30%	1-2 dias	Zimogênio
Fator X	Fator de Stuart-Prower	25%	30 horas	Zimogênio
Fator XI	Antecedente Tromboplastina Plasmática	25%	2-3 dias	Zimogênio
Fator XIII	Fator estabilizante da fibrina	2-3%	7-10 dias	Zimogênio
Fator de von Willebrand		50%	30 horas	Carreador
Trombomodulina		N/A	N/A	Cofator
Antitrombina			12-18 horas	Inibidor
Proteína C			4-6 horas	Inibidor, zimogênio
Proteína S			60 horas	Inibidor, cofator

ADAPTADO.

Hemostasia Primária

Vasoconstricção. Após uma lesão em um vaso sanguíneo, o mesmo imediatamente provoca uma vasoconstricção. Essa vasoconstricção simultaneamente a formação do edema diminui o gradiente de pressão no interior do vaso e ao redor do mesmo produzindo assim um tamponamento o que auxilia na hemostasia primária. A vasoconstricção permite a diminuição do fluxo de sangue para fora do vaso. E a interação do endotélio vascular com as plaquetas para a formação do trombo, consiste temporariamente em um mecanismo que evite a hemorragia⁸.

Agregação plaquetária. A exposição do sangue ao contato com colágeno subendotelial, promove a adesão de plaquetas, quando na presença de fator de von

Willebrand (vWF). A formação do complexo FV/FvW ativa as plaquetas, que liberam grânulos citoplasmáticos. No conteúdo destes grânulos está adenosina-difosfato (ADP), serotonina e tromboxane A2 (TXA2). Outras plaquetas são ativadas e sofrem modificação de suas formas de discoide para esférica com formação de pseudópodes graças à ADP liberado. As plaquetas ativadas se agregam umas às outras e formam assim um tampão, este se torna a superfície necessária para o processo de coagulação (hemostasia secundária), produzindo um coágulo resistente. Em seguida as plaquetas secretam a lipoproteína conhecida como fator tecidual (FT) ou também fator III, que participa dos vários processos da coagulação, desempenhando papel importante como superfície de ativação⁶.

Hemostasia Secundária

Substâncias inibidoras naturais da coagulação, conhecidas como anticoagulantes naturais que predominam no fluxo sanguíneo normal e assim impedem a formação do coágulo de fibrina, impedem o processo de coagulação. Porém, existe ainda substâncias que promovem esse processo de coagulação sanguínea, estas são conhecidas como substâncias pró-coagulantes e predominam quando há um rompimento na parede do vaso sanguíneo, tornam-se ativas para desenvolver o processo de coagulação, formando o coágulo sanguíneo⁸.

Esse processo de coagulação, também conhecido como hemostasia secundária, consiste em uma série de reações químicas que converte uma proteína solúvel no plasma, denominada de fibrinogênio em um polímero insolúvel, a fibrina pela ação da enzima denominada trombina (FIGURA 1).

O FT é uma glicoproteína de membrana que atua como receptor do fator VII. O FT não é expresso por células em contato direto com o fluxo sanguíneo, como células endoteliais e leucócitos, essas células somente podem expressá-los quando na presença de estímulos específicos de endotoxinas ou citocinas (TNF- α e interleucinas-1). Mas os fibroblastos, subjacentes ao endotélio vascular apresenta expressão do FT. O FT também pode ser encontrado em queratinócitos, células epiteliais do trato respiratório e trato gastrointestinal, cérebro, células musculares cardíacas, testículos, placenta e glomérulos renais².

Quando o FT se liga ao FVII, esse complexo FT/FVIIa, que tem função enzimática ativa, cliva os seus substratos fator IX e fator X, ativando-os. O FXa se liga ao FVa, que é proveniente também dos grânulos liberados das plaquetas ativas na adesão plaquetária. O complexo FXa/FVa também conhecido como complexo “protrombinase” converte pequenas quantidades de protrombina em trombina. Essa pequena quantidade de trombina não é suficiente para formação de coágulo, mas favorece a retroalimentação positiva do processo de coagulação ao ativar os fatores V, VIII e XI e receptores de superfícies das plaquetas^{2,6,9}.

Para amplificar esse processo, a pequena quantidade de trombina gerada, age de várias formas sobre as plaquetas. A trombina se liga a GpIb de forma intensa, e essa ligação promove alteração conformacional na trombina. Essa alteração permite que a trombina cliva os receptores ativadores de proteases plaquetária (PAR), que são proteínas transmembrana presentes nas plaquetas. A interação de trombina com PAR favorece o processo de sinalização em cascata, proporcionando a ativação de plaquetas⁹.

A ativação plaquetária provoca, uma modificação no citoesqueleto da plaqueta que muda de forma; um aumento da expressão de fosfatidilserina (FS), uma fosfolípide presente internamente na plaqueta e quando a mesma é ativada a FS migra para superfície da plaqueta e por isso permite a formação de complexos tenase e protrombinase, através da reunião de fatores, cofatores e íons na superfície da plaqueta; a liberação do conteúdo dos grânulos α e denso das plaquetas, o difosfato de adenosina (ADP) – conteúdo dos grânulos denso, promove retroalimentação positiva de plaquetas adjacentes e assim ativação de mais plaquetas. Nos grânulos α está presente o FV parcialmente ativo, que é convertido rapidamente para forma ativa pela ação da trombina⁹.

Mas a principal ação da trombina é a ativação de FVIII e FV plaquetário ou FV plasmático ligado a plaquetas. Pois quando a trombina ativa FVIII, o mesmo sofre dissociação do FvW e é então liberado como FVIIIa. A amplificação do processo resulta nas plaquetas ativadas que possuem em sua superfície os cofatores Va e VIIIa ^{6,9}.

Na fase de propagação, as plaquetas ativadas com os cofatores Va e VIIIa ligados em sua superfície permite que proteínas ancore e assim a formação dos complexos na superfície plaquetária. O fator IX ativo pelo complexo FT/FVIIa, no início do processo de coagulação liga-se as plaquetas ativadas. Essa ligação pode acontecer de forma dependente e independente do FVIIIa. De forma dependente de FVIIIa, o FIXa se liga à FVIIIa e esse complexo, também denominado tenase (FIXa/FVIIIa), ativa FX na superfície da plaqueta. O FXa ligado a plaqueta se junta a FVa também ligado a plaqueta e forma o complexo protrombinase (FXa/ FVa). Esse complexo FXa/FVa é capaz de converter protrombina em trombina, e intensifica muito essa produção de trombina^{2,6,9}

A trombina, por sua vez tem atividade procoagulante, converte o fibrinogênio solúvel em fibrina. A trombina cliva o fibrinogênio, e libera dois radicais de amina das subunidades α e β e assim converte fibrinogênio em monômeros de fibrina, que se agregam como protofibrilas^{8,9}.

A trombina também ativa o fator XIII que estabiliza as protofibrilas e torna o coágulo estável. A trombina ativa fator XI na superfície plaquetária por retroalimentação positiva. O FXIa pode ativar FIX e assim aumentar a formação de FXa. A trombina ainda, pode clivar PAR-4, que contribui para mudança de forma da plaqueta e uma estabilização maior do coágulo^{2,6,9}.

É importante destacar que os mecanismos anticoagulantes predominam sobre mecanismos procoagulantes, em condições fisiológicas e, assim mantem o fluxo do sangue e o vaso desobstruído².

FIBRINÓLISE

O sistema fibrinolítico ou também conhecido como sistema plasminogênio/plasmina é definido pela degradação da fibrina, mediada pela plasmina, enzima ativa a partir do plasminogênio (proenzima inativa). Este sistema é responsável pela remoção do trombo formado e pelo reestabelecer o fluxo sanguíneo. O sistema é constituído por várias

proteases e inibidores que regulam a formação da plasmina, que tem como principal função, degradar a fibrina formada pelo processo de coagulação^{2,6}.

A remoção do coágulo é tão importante quanto a formação do mesmo, pois é necessário que o fluxo sanguíneo continue normalmente. Para a remoção do coágulo é preciso dois processos, primeiro a retração do coágulo, onde ocorre a formação de plasmina a partir do plasminogênio, e em seguida a degradação da fibrina pela ação da plasmina^{1,9}.

Após formação do coágulo, o plasminogênio circulante, uma proenzima inativa, adere ao coágulo, e é então convertido em plasmina. Essa conversão ocorre pela ação do ativador de plasminogênio tecidual (t-PA) que é liberado do endotélio vascular. A fibrina do coágulo formado é o principal cofator para conversão do plasminogênio em plasmina, enzima ativa. A plasmina por sua vez, cliva a molécula de fibrina, e assim resulta na formação de produtos de degradação da fibrina (PDF's). Os PDF's formados são rapidamente removidos do organismo pelo sistema reticuloendotelial^{3,8,9}.

Apesar do processo de fibrinólise ser necessário em condições fisiológicas, o mesmo precisa ser regulado, pois ativação muito extensa do mesmo pode ocorrer quando na presença de fatores trombolíticos que favorecem um processo exacerbado. A inibição da fibrinólise ocorre mediante a ação dos inibidores da ativação do plasminogênio (PAIs), sendo os mais conhecidos PAI-1 e PAI-2 ^{2,9}.

A fibrinólise ocorre como processo específico para degradação de fibrina, de forma localizada e equilibrada, em condições fisiológicas, portanto a plasmina também degrada fibrinogênio, fator V e fator VIII ². Como a plasmina degrada vários fatores de coagulação, o que provoca extensa fibrinólise, liberando plasmina. Uma proteína, α_2 – antiplasmina (α_2 -AP), liga a essa plasmina liberada em excesso e atua inibindo o processo, regulando a fibrinólise generalizada^{3,6,8}.

E o TAFI (inibidor fibrinolítico ativado pela trombina), um zimogênio plasmático, ativado pela trombina quando na presença de trombomodulina (TM), inibe o processo de fibrinólise, ao modificar a fibrina, a partir da remoção de resíduos de lisina e arginina da molécula de fibrina, o que resulta na fibrina parcialmente degradada com menor ligação e ativação do plasminogênio^{2,8,9}.

REGULAÇÃO DA COAGULAÇÃO

As reações bioquímicas da coagulação são estritamente reguladas para evitar a formação inadequada de fibrina e em consequência uma oclusão do vaso². O processo de controle da coagulação envolve diferentes vias, no entanto essas vias regulatórias não operam isoladas, mas em conjunto.

O TFPI (inibidor da via do fator tecidual), é uma proteína produzida pelas células endoteliais, com três domínios, que regula o início do processo de coagulação. Como o complexo FVIIa/FT atua sobre os fatores IX e X, ativando-os, o primeiro domínio liga-se e inibe o fator Xa. O TFPI regula negativamente de forma rápida, a ativação direta do fator X, e assim limita a ativação do fator Xa e IXa. E a ligação do fator Xa ao complexo FVIIa/FT é necessária para o TFPI atuar sobre o complexo FVII/FT inibindo-o².

A proteína C (PC), zimogênio dependente da vitamina K, se liga ao seu receptor (EPCR-receptor endotelial de PC) é então ativada quando se liga ao complexo trombina-TM. A trombomodulina (TM), uma proteína transmembrana, receptor de trombina. A PC quando liberada desse complexo, inativa os cofatores Va e VIIIa. Esse processo de inativação dos cofatores Va e VIIIa é potencializado pela proteína S (PS), também uma proteína de pente de vitamina K que atua como cofator da PC^{2,9,10}.

Em uma das vias, a antitrombina (AT), que é o inibidor primário da trombina, e atua também inibindo várias outras proteases ativas, incluindo os fatores Xa, IXa, XIa, XIIIa e calicreína, quando essas proteínas não estão ligadas a seus respectivos cofatores. Portanto, a AT é um inibidor fraco das proteases, e tem sua ação acelerada quando na presença de heparina e substâncias semelhantes a mesma, que estão na membrana das células endoteliais. A AT atua ainda acelerando a dissociação do complexo fator VIIa/ fator tecidual e impedindo que aconteça a reassociação. A AT impede a ativação enzimática exacerbada e inadequada².

TESTES LABORATORIAIS

Quando ocorre deficiências na coagulação sanguínea, a idade do indivíduo no qual os distúrbios foram identificados auxiliam no diagnóstico. Se os defeitos da hemostasia ocorrem na infância, geralmente são deficiências congênicas de um dos componentes do processo de coagulação, como plaquetas ou dos fatores de coagulação, mas quando ocorre

o aparecimento de defeitos adquiridos na fase adulta, vários componentes podem estar afetados⁶.

A avaliação laboratorial do processo de coagulação sanguínea é importante para identificar as causas e define por vez, o defeito da hemostasia tanto em doenças hemorrágicas como nas trombóticas⁹.

Os testes para avaliação laboratorial do processo são úteis para monitorar a terapêutica antitrombótica. Apesar destes testes serem úteis na prática, são realizados *in vitro*, e isso não refletem a complexidade do processo fisiológico *in vivo*^{7,9}.

Os testes tradicionais para avaliar o processo de coagulação *in vivo* estão baseados na avaliação das vias intrínseca e extrínseca assim, o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) é utilizado para avaliar a via intrínseca enquanto, o tempo de protrombina (TP) avalia a via extrínseca⁷.

Os testes laboratoriais, realizados inicialmente para determinar a causa básica do evento observado, devem ser interpretados em conjunto. Com isso, a avaliação do processo de coagulação baseado em superfícies celulares mostra que as vias intrínseca e extrínseca são associadas⁷. Assim, os testes podem ser divididos de acordo com os processos de hemostasia: hemostasia primária, hemostasia secundária (coagulação sanguínea) e fibrinólise.

Os testes para avaliar o processo de coagulação são utilizados de acordo com a fase a ser avaliada. Dessa forma, para avaliar os níveis de fatores procoagulantes da fase de iniciação é o TP, e para avaliação dos fatores procoagulantes comprometido com a produção de trombina na superfície de plaquetas ativadas na fase de propagação é o TTPa^{7,9}.

Contagem de plaquetas

Para avaliação da hemostasia primária, cita-se a contagem de plaquetas, na qual a mesma geralmente é realizada por meio de contadores automatizados de células, utilizando como amostra sangue total anticoagulado com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), anticoagulante que atua como agente quelante do íon cálcio. Por muito tempo a contagem de plaquetas por equipamentos vem sendo realizada, e muitos desses equipamentos são capazes de analisar outros parâmetros, como a distribuição do volume plaquetária^{9,10}.

No entanto, essa contagem pode ainda ser realizada por métodos em que se utiliza da hematoscopia, pois a observação em microscópio permite avaliar a morfologia das plaquetas e sua contagem manual em lâmina pelo método de Fônio, por exemplo, onde a contagem de plaquetas no esfregaço é por campo e então é multiplicada pelo número de eritrócitos estimados da amostra. A visibilização do esfregaço de sangue em lâmina permite confirmar uma plaquetopenia ou plaquetose e ainda auxilia no diagnóstico de várias condições como pseudoplaquetopenia por agrupamentos plaquetários ou satelitismo plaquetário (plaquetas aderidas aos leucócitos) causado pelo EDTA, falsa plaquetose por presença de micrócitos que podem ser contados como plaquetas, entre outras doenças plaquetárias^{9,10}.

O método de Fônio se bem executado é confiável, porém outro método de contagem manual de plaquetas pode ser realizado como pela câmara de Newbauer. Para utilizar a câmara de Newbauer é preciso realizar uma diluição utilizando uma solução de diluição com um volume proporcional da amostra e preencher a câmara. Ao realizar a contagem em microscópico, faz-se o cálculo de acordo com a diluição. O método pode ser mais exato e preciso para diagnóstico, contudo laborioso¹⁰.

Os valores de referências para o número de plaquetas está aproximadamente entre 150.000/ mm³ a 400.000 mm³. Ressaltando que discretas variações no número de plaquetas podem ser aceitas.

Tempo de sangramento

O tempo de sangramento representa a medida de mais simples e mais rápida de avaliar a função plaquetária *in vivo* e a integridade da parede dos vasos. O mesmo consiste na realização de uma incisão na pele, de modo a lesar pequenos vasos, e assim pode avaliar o tempo de formação do tampão plaquetário onde os processos da hemostasia primária estão envolvidos^{9,11}.

O tempo de sangramento pelo método de Duke, deve ser realizado no lóbulo da orelha, conta-se o tempo entre o momento da incisão até a parada do sangramento na região. Os valores normais variam de 1 a 3 minutos, mas o tempo pode estar prolongado em alterações importantes da função plaquetária ou em trombocitopenias graves^{9,10,11}.

O tempo de sangramento pelo método de Duke é pouco sensível, e por não ter valor clínico não é muito utilizado, nesse sentido desenvolveu-se a técnica de Ivy, onde faz se

uma incisão padronizada na face anterior do antebraço com a utilização de um manguito de esfigmomanômetro insuflado, e mede-se o tempo que cessa o sangramento. Os valores de referência está entre 1 a 9 minutos. O tempo pode estar alterado em doenças da função plaquetária, doenças plaquetária quantitativa, doenças vasculares e doença de von Willebrand^{9,10,11}.

O uso de alguns medicamentos pode também alterar o tempo de sangramento, como AAS (ácido acetilsalicílico) E AINES (anti-inflamatórios não esteroides). Em pacientes com deficiência de fatores de coagulação, o tempo de sangramento não está alterado. Entretanto, na trombocitopenia autoimune o tempo é curto, demonstrando a função intensa das plaquetas jovens^{9,10}.

Alguns equipamentos recentemente disponíveis vem substituindo a técnica de Ivy, método realizado para determinar o tempo de sangramento. Esses equipamentos são capazes de reproduzir o tempo de sangramento utilizando um pequeno volume de sangue total com anticoagulante citrato de sódio e apresenta uma maior reprodutibilidade e sensibilidade^{9,10}.

Tempo de protrombina

O tempo de protrombina (TP) consiste em avaliar o tempo de formação do coágulo de fibrina após adição de tromboplastina tecidual (fator III) e cálcio ao plasma da amostra com anticoagulante citrato de sódio. Com isso inicia a reação pela ativação do fator VII, ativando em seguida o fator X e assim inicia a formação de trombina a partir de protrombina em consequência o coágulo. Assim, o TP avalia a integridade dos fatores envolvidos na via extrínseca e comum. Os valores de referência do tempo de protrombina varia entre 10 a 14 segundos e ainda o TP pode ser expresso como atividade de protrombina em porcentagem, valor normal 70 a 100% ^{9,10,11}.

Com indivíduos que utilizam medicação antivitamina K, e o nível de anticoagulação pode ser mensurado de forma diversa por diferentes reagentes, foi necessário padronizar os resultados e assim estabelecer a terapêutica mais comum universalmente. A padronização foi utilizada pela determinação do Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) de cada reagente de tromboplastina, e partir do ISI pode calcular a Razão Normalizada Internacional (RNI). O RNI é calculado utilizando o ISI, como índice corretor fornecido pelo fabricante do reagente de tromboplastina, na relação do TP do indivíduo com o TP do

plasma considerado normal. O valor de referência de RNI está entre 0,9 e 1,25, mas esse valor altera em pacientes com uso de anticoagulantes orais como dicumarínicos, inibidores da vitamina K, sendo o RNI sempre utilizado no controle do uso destes medicamentos^{9,10,11}.

Com adição de tromboplastina tecidual ao plasma, a atividade dos fatores XII, XI, IX e VIII não refletem sobre o TP, pois o mesmo avalia atividade dos fatores V, VII, X, protrombina e fibrinogênio^{6,10}.

Tempo de tromboplastina parcial ativada

O tempo de tromboplastina parcial ativada consiste em avaliar o tempo de coagulação do plasma após adição de ativador da fase de contato da coagulação e da cefalina, fosfolípido da membrana plaquetária, assim o processo acontece e envolve todos os fatores de coagulação, exceto fator VII e XIII. O TTPA avalia integralmente as vias intrínseca e comum, que engloba os fatores V, VIII, IX, X, XI, XII, protrombina, fibrinogênio, pré-caliceína e HMWK^{9,10,11}.

Os valores normais está entre 25 e 39 segundos, e pode variar de acordo com os reagentes utilizados no teste. A relação entre o tempo do indivíduo e o tempo controle também deve ser expressa e normalmente o valor de referência deve ser menor que 1,25^{6,9,10,11}.

Como a heparina é utilizada como inibidor de fatores de coagulação que promove a formação de fibrina, o uso da mesma pode ser monitorado pelo TTPa e também na deficiência de alguns fatores como IX e VIII⁶.

O prolongamento em ambos testes TP ou TTPa podem ser patológicos e sempre deve ser identificado. A deficiência de fatores de coagulação; a presença de anticorpo inibidor direcionado a um dos fatores de coagulação e outras doenças de base como hepatopatia prolonga ambos testes. No prolongamento do tempo, o TP ou TTPa deve ser repetido utilizando 50% do plasma do indivíduo e 50% do plasma normal, e a normalização do tempo sugere deficiência de fator e quando as alterações do tempo mantem mesmo após a mistura de partes iguais de plasma indica presença de inibidor como heparina entre outros^{9,10,11}.

O encurtamento do tempo em ambos testes, geralmente está associado a coleta inapropriada, ou doença de base que causa CIVD, e até mesmo hemorragia ou trombose¹¹.

Tempo de trombina

No tempo de trombina (TT), a trombina é adicionada no plasma citratado e então determina-se o tempo de coagulação do plasma, diretamente da conversão do fibrinogênio em fibrina, e ausência dos fatores de coagulação. Por isso, o teste avalia a função do fibrinogênio, sendo realizado geralmente para identificar deficiência da molécula de fibrinogênio como hipofibrinogenemia e disfibrinogenemia^{6,9,10,11}.

Os valores normais variam de 9 a 12 segundos. A presença de heparina, imunoglobulinas como macroglobulinemia na doença de Waldenstrom, nas deficiências de fibrinogênio, prolonga o tempo ou é incoagulável na afibrinogenemia^{6,10}.

Fibrinogênio

A dosagem de fibrinogênio pode ser determinado pela concentração em plasma citratado, e está baseada no método de Clauss, a partir do excesso de trombina é mensurado a conversão de fibrinogênio em fibrina. Com isso, o teste é indicado quando de alteração no TT. E a concentração pode ainda ser determinada por densidade óptica, pois os valores de ambos os métodos são relacionados. A concentração do fibrinogênio pode estar aumentada em processos inflamatórios agudos e crônicos, por ser uma proteína de fase aguda da inflamação^{9,11}.

Deve lembrar que são muitos os testes laboratoriais para avaliar todo o processo de coagulação, como: estudo da agregação plaquetária *in vitro*; estudo das plaquetas por citometria de fluxo, além dos parâmetros plaquetários de equipamentos automatizados para avaliação de plaquetas; dosagem de cofatores como vitamina K e íon cálcio; dosagem de fatores no plasma para determinar a concentração dos mesmos; dosagem de proteínas do sistema de regulação da coagulação, como antitrombina, proteína C e S; métodos para avaliar a atividade fibrinolítica, como dosagem dos PDFs e dosagem de componentes como plasminogênio e métodos de determinação do D-dímero; e, apenas alguns foram aqui mencionados.

CONCLUSÃO

A hemostasia é um processo complexo e de regulação controlada, com participação de diversos componentes fisiológicos celulares e moleculares que atuam em um

mecanismo de defesa e de controle da perda de sangue quando em lesão do vaso ou mesmo em outras condições patológicas.

Os conceitos de via extrínseca, intrínseca e comum representa o modelo do processo de coagulação convencionalmente aceito, porém não reflete completamente os eventos da hemostasia.

O modelo baseado em superfícies celulares representa de forma mais exata o processo de coagulação e como consequência um melhor entendimento para interpretação dos testes laboratoriais que avaliam o processo de coagulação.

Os testes disponíveis para avaliação laboratorial do processo de coagulação são eficientes, mas devem ser empregados de acordo com a fase a ser avaliada. Entretanto, os avanços no desenvolvimento de métodos para diagnóstico asseguram melhores resultados.

REFERÊNCIAS

1. CARLOS MML & FREITAS PDFS. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. **Acta Veterinária Brasileira**. 1(2): 49-55, 2007.
2. Franco RF. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina, Ribeirão Preto**. 34: 229-237, 2001.
3. BERGER M; SILVA WOB; SANTI L; GUIMARÃES JA. Hemostasia: Uma revisão. **Caderno Pedagógico**. 11(1): 140-148, 2014.
4. MACFARLANE RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biochemical amplifier. **Nature**. 202: 498-499, 1964.
5. DAVIE EW & RATNOFF OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. **Science**. 145: 1310-1312, 1964.
6. CAGNOLATI, DC; SANKARANKUTTY, AK; ROCHA JPS; BEER A; SILVA-JÚNIOR OC. Hemostasia e distúrbios da coagulação. **Medicina, Ribeirão Preto**. 1: 1-28.
7. FERREIRA, CN; SOUSA, MO; DUSSE, LMS; CARVALHO, MG. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. 32(5): 416-421, 2010.
8. MACEDO K. A fisiologia da coagulação sanguínea e as principais alterações que levam à hemofilia [monografia]. Rio de Janeiro: **Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ**; 2005.

9. REZENDE SM. Fisiologia da coagulação, fibrinólise e controle da coagulação. Capítulo 59. In: ***Tratado de Hematologia***. ZAGO MA; FALCÃO RP; PASQUINI R. São Paulo. Editora Atheneu, 2013.
10. REZENDE SM. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. ***Revista de medicina de Minas Gerais***. 20(4): 534-553, 2010.
11. NAOUM, FA. Doenças que alteram as plaquetas e o coagulograma. Capítulo 15 e 16. In: ***Doenças que alteram os exames hematológicos***. 2.ed. Rio de Janeiro. Editora Atheneu, 2017.