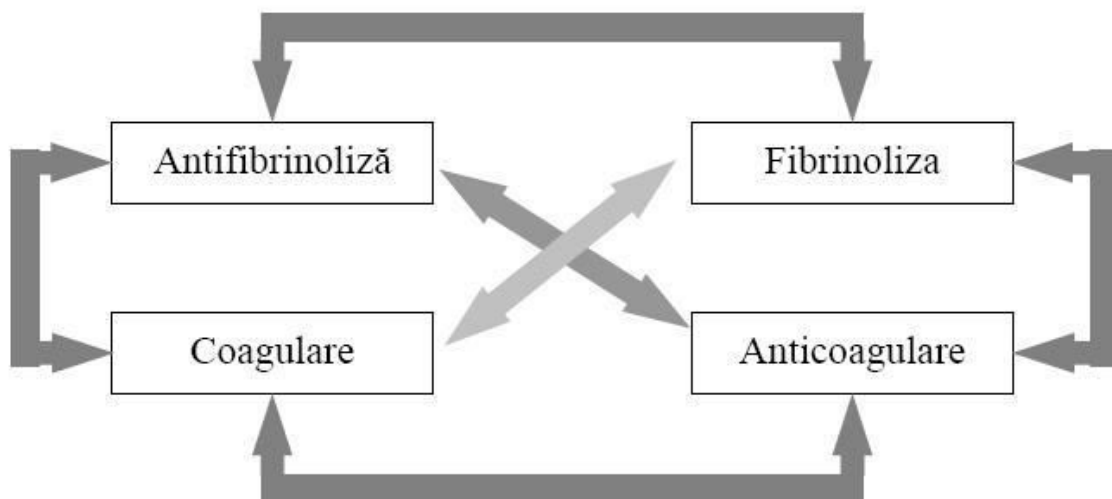


Investigarea hemostazei

Hemostaza se definește prin ansamblul mecanismelor care asigură fluiditatea sângelui și integritatea vasculară, atât în stare fiziologică cât și în cea patologică.

Hemostaza fiziologică este compusă din 4 domenii funcționale interdependente: coagularea, anticoagularea, fibrinoliza și antifibrinoliza.



Coagularea face parte dintr-un sistem complex de reacții hemostatice care cuprinde:

- factorii vasculari ce realizează hemostaza primară (timpul vasculo-plachetar)
- factorii plasmatici care realizează hemostaza secundară (coagularea).

Factorii implicați în hemostază interacționează în următoarea secvență:

- Vasoconstricție
- Formarea trombului alb trombocitar
- Activarea coagulării
- Formarea cheagului de fibrină
- Retractiva și liza cheagului

I.Explorarea hemostazei primare

A.Plachetograma

1.Numaratoarea trombocitelor

Valori normale: 150.000 - 400.000/mm³

Modificari patologice:

- **Trombocitopenia:** scăderea numărului trombocitelor $< 150.000/\text{mm}^3$ este produsă prin:
 - **scăderea producției medulare** (anemie aplastică, infiltrarea măduvei cu țesut tumoral, deficitul de vitamină B₁₂ și/sau acid folic)
 - **creșterea distrucției sau consumului în sângele periferic** (purpură trombocitopenică idiopatică, purpură trombocitopenică trombotică, coagularea intravasculară diseminată - CID)
 - **sechestrare splenică** (în splenomegalie)
 - **trombopoieza inefectivă**
- **Trombocitoza:** creșterea numărului de trombocite peste 400.000/mm³ poate avea următoarele cauze:

- infecții acute
- diferite tipuri de anemii(posthemoragica, hemolitica, feripriva).
- Insuficiența cardiacă cronică
- ciroza
- leucemie cronică
- policitemia vera
- artrita reumatoidă
- TBC
- neoplasme

2.Plachetocritul (PCT): raportul volum de trombocite/volum sangvin total.

Valoare normală: 0.08-1%

Interpretare: -Valoare scăzută: trombocitopenie

-Valoare crescută: trombocitoză

3.Volumul plachetar mediu (MPV)-reprezintă volumul mediu al unui trombocit

Valoare normală: 6-10fl

4.Indicele de distribuție plachetar (PDW)- reprezintă variația % a volumelor plachetare

Valoare normală: 10-15%

Interpretare:- valoare crescută: trombopatii

B Studiul trombocitelor

a) Examenul frotiului de sânge periferic colorat MGG

Se studiază modificări ale morfologiei, dimensiunilor și repartiției trombocitelor:

- grupări de 15-25 elemente: număr normal de trombocite
- grupuri de 4-5 elemente: trombocitopenie
- trombocite izolate, negropate: trombocitopenie sau trombocitopatie
- grupuri dense: trombocitoză

b) Funcția trombocitelor :

- adezivitatea
- agregabilitatea (cu ristocetină, ADP, collagen)
- activitatea factorului 3 plachetar (fosfolipidul plachetar T₃)
- retracția cheagului (în mod normal este completă după 3 ore)

Sunt investigații speciale indicate în diagnosticul trombocitopatiilor prin defect de aderare (boala von Willebrand), prin defect de agregare (trombastenia Glanzmann) sau secundar alterării metabolismului acidului arahidonic (ex, inhibiția ciclooxigenazei indusă de aspirină).

● Puncția sternală

Examenul măduvei hematogene este indicat pentru elucidarea cauzei unei trombocitopenii: numărul megacariocitelor va fi *scăzut* în trombocitopeniile prin *scăderea producției medulare* și va fi *crescut* în cele determinate de *creșterea distrucției periferice*.

● Testul fragilității capilare (testul Rumpel Leed, Hess, testul garoului) explorează funcția hemostatică a vaselor și trombocitelor.

Principiu : se apreciază rezistența sau fragilitatea capilarelor de la nivelul plicii cotului prin numărul de peteșii formate ca urmare a aplicării unei compresiuni cu manșeta tensiometrului sau cu un garou. Crearea unei staze venoase favorizează extravazarea eritrocitelor prin endoteliul capilar în țesutul subcutanat cu apariția de hemoragii cutanate punctiforme (purpură, peteșii).

Tehnica : se umflă manșeta tensiometrului la 100 mmHg timp de 5 minute, după care se scoate manșeta și se numără peteșiile formate.

Interpretare : testul este negativ (normal) dacă apar până la 10 peteșii și pozitiv dacă numărul peteșiilor este mai mare de 10. După unii autori (Hess) la omul sănătos apariția peteșiilor în zona de sub stază este considerată patologică.

Testul este pozitiv în :

- sindroame hemoragice vasculare (primare sau secundare)
- sindroame hemoragice trombocitare (trombocitopenii sau trombocitopatii).

● Timpul de sângerare

Principiu: este un test screening ce evaluează funcția vasculară și trombocitară. Reprezintă timpul necesar opririi sângerării unei incizii standardizate.

Tehnica : Există 2 tehnici:

- **tehnica Duke:** se dezinfectează lobul urechii și se înțeapă cu un ac de seringă astfel încât adâncimea leziunii să fie de 3 mm. Se declanșează concomitent cronometrul. Din 30 în 30 de secunde se absoarbe cu hârtie de filtru picătura de sânge care iese spontan. Când plaga nu mai sângerează se oprește cronometrul și se notează timpul scurs.

Valori normale : 2 - 4 minute

Patologic: peste 5 minute (între 4 și 5 minute se repetă determinarea).

- **tehnica Ivy:** se fac 2-3 mici incizii pe fața anterioară a antebrațului și se tamponează cu hârtie de filtru din 30 în 30 de secunde până în momentul opririi sângerării.

Valori normale: 3 - 8 min

Interpretare :

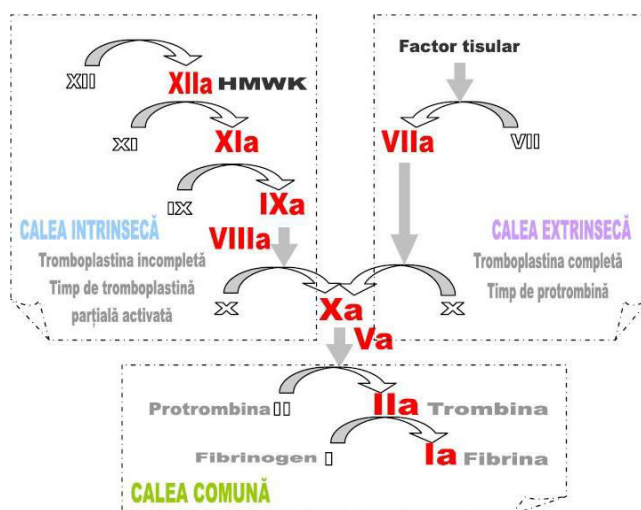
Timpul de sângerare este **prelungit** în :

- sindroame hemoragice de cauza vasculara (ex, purpura Henoch-Schönlein, telangiectazia hemoragică ereditară)
- sindroame hemoragice de cauza trombocitară:
 - trombocitopeniile ($< 100.000/\text{mm}^3$)
 - trombocitopatii (ex, boala von Willebrand)
- CID

Timpul de sângerare este normal în coagulopatii (ex, hemofilie).

II Explorarea hemostazei secundare

Coagularea plasmei este declanșată pe două căi, extrinsecă și intrinsecă. Fiecare dintre acestea presupune activarea succesivă a unor factori ai coagulării: factorul VII pentru calea extrinsecă și factorii XII, XI, IX și VIII pentru calea intrinsecă. Cele două căi converg către activarea factorului X cu care începe calea finală comună ce duce la formarea fibrinei.



Factor	Rolul factorului
I. Fibrinogen	Formează cheagul de fibrina
II. Protrombina	Activează I,V,VII,XIII, prot.C, plachetele. Este factor dependent de vitamina K.
III. Tromboplastina	Lipoproteină tisulară sau trombocitară (T_3) activatoare a protrombinei
IV. Calciu (Ca^{2+})	Necesar pentru activarea protrombinei și formarea fibrinei Necesar pentru legarea factorilor de coagulare de fosfolipid
V. Proaccelerina - Accelerina	Rol în activarea protrombinei.Cofactor pentru X, cu care formează protrombina Forma activă (factorul VI) foarte labilă.
VII. Proconvertina - Convertina	Interacționează cu tromboplastina accelerând conversia protrombinei în trombină prin mecanism extrinsec. Factor dependent de vitamina K.Activează IX și X.
VIII. Globulina antihemofilică A	Component al cascadei de activare a coagulării prin mecanism intrinsec Cofactor pentru IX cu care formează tenaza
IX. Globulina antihemofilică B (factorul Christmas)	Component al cascadei de activare a coagulării prin mecanism intrinsec. Formează tenaza cu VIII. Activează X
X. Factorul Stuart-Prower	Rol central în declanșarea coagulării prin mecanism intrinsec și extrinsec. Factor dependent de vitamina K.Activează II, formează protrombinaza
XI. PTA	Activat de factorul Hageman și activează la rândul său factorul IX
XII. Factorul Hageman	Activat în contact cu endoteliul lezat, inițiază reacția în cascadă a coagulării prin mecanism intrinsec.Activează prekalicreina și fibrinogenul
XIII. Factorul stabilizator al fibrinei (FSF)	Produce transformarea fibrinei S (solubilă) în fibrina I (insolubilă)
Factorul Fitzgerald	Kininogen macromolecular, interacționează cu factorul XII și factorul Fletcher.

Testele care explorează coagularea se clasifică în:

A.Teste globale (explorează coagularea în ansamblu)

a) Timpul de coagulare Lee-White

Principiu: constă în determinarea timpului scurs de la recoltarea sângelui fără anticoagulant până la coagularea sa.

Valori normale: 6 - 8 minute

Interpretare:

Timpul de coagulare este prelungit în :

- hemofilii
- CID

Datorită sensibilității sale reduse testul este actual abandonat.

b) Timpul Howell (timpul de coagulare a plasmei citratate recalcificate, timpul de recalcifiere)

Principiu: Se măsoară din momentul recalcifierii (prin adaos de calciu) a plasmei oxalate sau citratate până la apariția cheagului de fibrină.

Valori normale: 1 - 2 min

Interpretare :

Timpul de recalcifiere este alungit în:

- deficitul factorilor II, V, VIII, IX, X, XI or XII
- deficitul kininogenului macromolecular, prekalicreinei sau fibrinogenului
- prezența anticoagulantelor circulante (heparină)
- trombocitopeniile severe (prin deficit de T_3).

c) Testul consumului de protrombină (TCP)

Principiu: testul explorează formarea tromboplastinei endogene la care iau parte factorii antihemofilici și trombocitele. În cursul coagulării, protrombina (factorul II plasmatic) se consumă în cheag în proporție de 90%, transformându-se în trombină sub acțiunea complexului tromboplastinic endogen. Restul de 10% rămâne în ser (protrombină reziduală),

cantitate ce poate fi detectată. Toate situațiile în care tromboplastina endogenă și/sau calea finală comună sunt deficitare, conduc la un consum scăzut de protrombină care rămâne în ser în cantitate mai mare.

Valori normale : peste 45 sec.

Patologic: sub 20 sec.

Interpretare :

TCP este scurtat în :

- trombocitopenii
- trombocitopatii cu deficit de eliberare de T_3
- hemofilii A și B, când nivelele plasmatice ale factorilor VIII, IX, XI și XII, ca

și a kininogenului macromolecular sau a kalikreinei sunt < 10-20% din valorile normale

Actual, TCP este utilizat ca test screening pentru T_3 .

B. Metode de explorare a căii intrinseci

a) Timpul de tromboplastină parțială (PTT)

Principiu: Reprezintă timpul de coagulare a plasmei deplachetizate măsurat din momentul declanșării coagulării prin adăugarea Ca^{2+} în prezența cefalinei ca substituent al factorului 3 plachetar. Explorează calea intrinsecă și cea finală comună.

Valori normale : 70 - 110 sec.

Interpretare :

PTT se alungește în:

- deficitul tuturor factorilor coagulării cu excepția factorilor VII și XIII (ex, hemofilia A și B)
- prezența inhibitorilor factorilor coagulării
- CID
- anticoagulante de tipul heparinei
- deficitul de fibrinogen..

Actual acest test a fost înlocuit cu PTTK.

b) Timpul de tromboplastină parțială activat (APTT sau PTTK)

Principiu: Reprezintă un PTT la care activarea factorului XII este controlată prin adaos de kaolin, celită sau acid elagic.

Valori normale : 25 - 35 sec.

Actual PTTK este testul utilizat pentru monitorizarea heparinoterapiei.

Observație:

Actual se utilizează ca tratament anticoagulant **heparinele cu greutate moleculară mică** (Enoxaparin, Fraxiparin, Fragmin, Logiparin) obținute prin depolimerizarea chimică sau enzimatică a heparinei standard (conțin sub 18 unități monozaharidice cu Gm cu 3.000 – 5.000 D) și care își exercită efectul anticoagulant prin inhibiția factorului Xa (nu a trombinei). Monitorizarea terapiei nu se face prin determinarea APTT (testele de coagulare nu sunt modificate), ci prin determinarea activității factorului Xa, fie cu ajutorul substraturilor cromogene, fie coagulometric cu Heptest.

Efectuarea PTTK este indicată în:

- Deficiente congenitale a unor factori de coagulare (factor VIII- hemofilia A sau factor IX – hemofilia B)
- evaluarea răspunsului la terapia anticoagulantă cu heparina sau derivati de cumarina
- identificarea cauzelor posibile ale unor sîngerări anormale cum ar fi epistaxis, hematuria, menoragia.

Interpretare

PTTK este alungit în:

- deficit de factori VIII, IX, X, XI, XII, kininogen, prekalikreina, fibrinogen, factorul V
- :

C. Metode de explorare a căii extrinseci

Coagularea pe cale extrinsecă se realizează cu participarea factorilor VII, X, V, II și I, (dintre care factorii II, VII, X împreună cu factorul IX din calea intrinsecă sunt denumiți factorii vitamino- K-dependenți, fiind sintetizați în ficat în prezența vitaminei K).

a) Timpul Quick (timpul de protrombină, PT sau TQ)

Principiu: Este timpul de recalcifiere al plasmei oxalate/citrate în prezența tromboplastinei tisulare în exces. Explorează calea extrinsecă și cea finală comună

TQ este utilizat pentru monitorizarea terapiei pe cale orală cu anticoagulante cumarinice

Valori normale : 12 - 15 sec.

Interpretare:

PT se determină în secunde, dar exprimarea rezultatelor se face sub formă de:

1) Activitate protrombinică (AT)

Valori normale : 70 – 120 %

Reprezintă procentul de factori ai coagulării (VII, X, V, II, I) rămași activi din punct de vedere funcțional în plasmă. Se calculează pe baza unei curbe de calibrare trasată cu ajutorul unor diluții succesive (100%, 50%, 25%, 12,5%) ale unei plasme martor.

2) Raport protrombinic (RPT)

Valori normale : 1

Reprezintă raportul $PT_{\text{pacient}}/PT_{\text{martor}}$.

3) INR (International Normalized Ratio)

Actual, este cea mai utilizată metodă de exprimare a timpului Quick.

Valori normale : 1

La ora actuală INR este preferat de către majoritatea laboratoarelor și de cei mai mulți clinicieni pentru a controla nivelul anticoagulării orale la pacienții tratați cu anticoagulante orale de tipul derivaților cumarinici (warfarină, Trombostop). În cursul tratamentului valoarea INR trebuie să fie cuprinsă între 2-3 în vederea unei anticoagulări optime (sub 2 apare riscul de tromboză, iar peste 3 risc de hemoragie).

INR reprezintă exprimarea standardizată a PT ce ține cont de sensibilitatea diferitelor preparate de tromboplastină tisulară (de iepure, bovină, umană). Se calculează ca raportul: $(PT_{\text{pacient}}/PT_{\text{martor}})^{ISI}$, unde ISI = International Sensitivity Index.

Patologic:

Timpul Quick este prelungit în:

- afecțiuni hepatice severe (scăderea sintezei proteice)
- carența de vitamina K. Pentru a deosebi prelungirea timpului Quick determinată de o hepatopatie de cea indusă de carența de vitamina K se face **testul Koller**. Acesta constă în administrarea vitaminei K parenteral timp de 2 zile, după care se repetă timpul Quick. În carența de vitamina K acesta se normalizează, în timp ce hepatopatii rămâne nemodificat.
- a- sau hipofibrinogenemii
- CID, prezența antitrombinelor
- deficitul izolat de factor VII (foarte rar întâlnit).

III.Explorarea fibrinoformării

a) Timpul de trombină (TT)

Principiu: Este timpul de coagulare a plasmei oxalate/citrate determinat în prezența unei cantități cunoscute de trombină. Adaosul trombinei explorează fibrinoformarea, celelalte faze ale coagulării fiind scurtcircuitate.

Valori normale :20-30 sec.

Patologic:

Timpul de trombină este prelungit în :

- a- și hipofibrinogenemii
- în prezența heparinei
- în prezența inhibitorilor trombinei sau fibrinogenului (plasmina și PDF), CID.

Observație: pentru a diferenția prelungirea TT datorat a- și hipofibrinogenemiei de prelungirea TT din cauza prezenței heparinei se poate utiliza *timpul de coagulare trombină-protamină* (protamina neutralizează efectul anticoagulant al heparinei și a PDF). Prelungirea TT asociată cu prelungirea timpului de coagulare trombină-protamină sunt sugestive pentru a- și hipofibrinogenemiei, în timp ce prelungirea TT dar cu timp de coagulare trombină-protamină normal indică prezența heparinei

b) Dozarea fibrinogenului

Valori normale : 200 - 400 mg %

Interpretare:

Valori crescute:

- inflamatii acute
- IMA
- cancer
- eclampsie
- boala Hodgkin
- mielom multiplu
- sindrom nefrotic

Observație: Există dovezi care arată că, nivelul plasmatic crescut peste valorile normale constituie un factor de risc semnificativ pentru bolile coronariene și cerebrovasculare.

Valori scăzute:

- a- și V hipofibrinogenemii
- insuficiența hepatică
- CID și fibrinoliza primară.

c) Studiul factorului XIII

Se face cu ajutorul **timpului de liză al cheagului în prezența ureei** care evaluează stabilitatea cheagului de fibrină (activitatea factorului XIII). Deficitul acestuia (deși rar) trebuie suspiciat în prezența unui istoric de sindrom hemoragipar și cu PTT, PT și TT normale.

d) Proba amestecului

Se indică în prezența alungirii unuia dintre testele screening ale coagulării (PTT, PT, TT).

Proba constă în amestecarea în cantități egale a plasmei pacientului cu o plasmă normală cunoscută și constatarea corecției defectului de coagulare. Testele screening sunt normale în prezența unor concentrații serice ale factorilor coagulării de peste 50%; corecția certifică prezența unui deficit al factorilor coagulării. Lipsa corecției deficitului factorilor coagulării indică prezența unor anticorpi împotriva factorilor coagulării care inhibă atât factorii din plasma pacientului cât și pe cei din plasma normală. Acești inhibitori vor fi ulterior identificați cu ajutorul unor teste speciale.

IV.Explorarea fibrinolizei

Sistemul fibrinolitic este implicat în dizolvarea cheagului de fibrină. Are rol în repermeabilizarea vaselor obstruate prin coagulare. În acest sistem plasmina, o proteină din ser scindează fibrina dând naștere produșilor de degradare ai fibrinei, care inhibă trombina.

1. Metode directe - evaluează activitatea plasminei și a activatorilor plasmatici:

a) Determinarea plasminogenului

Valori normale : 75 – 160 %

b) Determinarea α_2 -antiplasminei

Valori normale : 80 – 120 %

c) Determinarea activatorilor tisulari ai plasminogenului (t-PA)

În mod normal sunt **absenți**, concentrațiile serice sunt extrem de reduse pentru a fi decelabile prin metodele actuale.

d) Timpul de liză a cheagului euglobulinic

Valori normale: peste 60 minute

Interpretare: < 60 minute semnifică fibrinoliză accelerată

e) Timpul de liză a cheagului la 37°C

Valori normale: liza se produce în 48 -72 h

Interpretare: < 24 h = fibrinoliză moderată

< 2 h = fibrinoliză severă.

2. Metode indirecte -evaluează consecințele fibrinolizei asupra fibrinei, fibrinogenului sau altor factori plasmatici, adică prezența produșilor de degradare ai fibrinei (PDF):

a) Determinarea PDF

Valori normale: < 10 mg/L

Interpretare:

Valori crescute ale PDF se întâlnesc în:

- fibrinoliza primară și secundară (toate cauzele de CID)
- embolie pulmonară, infarct miocardic
- terapia trombolitică
- prezența activatorilor tisulari ai plasminogenului în circulație

Testul nu diferențiază fragmentele fibrinogenului de cele ale fibrinei și de asemenea nu poate deosebi fibrinoliza primară de cea secundară.

b) Determinarea timpului de trombină (prelungit în prezența PDF)

Testele de rutină utilizate în explorarea coagulării sunt:

Test	Semnificație
▪ Numărătoarea trombocitelor	Numărătoarea trombocitelor
▪ Frotiul de sânge periferic	Morfologia și numărul celulelor
▪ Timpul de sângerare (TS)	Funcția vasculară și trombocitară
▪ Timpul de protrombină (PT)	Calea extrinsecă
▪ Timpul de tromboplastină parțială activată (APTT)	Calea intrinsecă
▪ Timpul de trombină (TT)	Formarea fibrinei

Teste de laborator în principalele sindroame hemoragice

	T	TS	TQ	APTT	Alte explorări
<i>Sindroame hemoragice vasculare</i>	N	↑	N	N	- testul garoului pozitiv
<i>Sindroame hemoragice trombocitare</i> ▪ trombocitopenii ▪ trombocitopatii	↓ N	↑ ↑	N N	N N	- TCP ↓ Ac. anti T - st. aderării, agregării T
<i>Coagulopatii</i>	N	N	N	↑	- TCP f. ↓ - teste speciale pt. factorii VIII și IX
<i>Boala von Willebrand</i>	N	↑	N	↑	- absența agregării T în prezența ristocetinei - TCP ↓ - factor von Willebrand ↓
<i>Coagularea intravasculară diseminată</i>	↓	f. ↑	↑	↑	- TT ↑, PDF ↑ - Fibrinogen ↓

-PT↑ si APTT normal: deficit de factor VII

Cauze: afecțiuni hepatice, deficit de vitamina K, warfarina sau dicumarol.

-PT↑ si APTT↑ : deficit de factori X, II, V, I

Cauze: CID, insuficiența hepatică, deficit de vitamina K.

-PT normal si APTT↑ : deficit de factori XII, XI, IX, VIII

Cauze: hemofilia A și B, boala von Willebrand, heparina

-PT normal si APTT normal: deficit de factor XIII

Cauze: pacienți sănătoși, deficit de factor XIII

-TS, APTT, PT normale, în prezența unei hemoragii poate să însemne: o problemă chirurgicală, hipotermie, eroare de laborator

Algoritm de diagnostic al sindroamelor hemoragice

