



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ – UFC  
HEMOCENTRO DO CEARÁ - HEMOCE  
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM - FFOE  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS**

**Valquíria Maria Silva de Oliveira**

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO TP E TTPa EM  
PACIENTES EM USO DE ANTICOAGULANTE**

**Fortaleza - Ceará  
2005**

**VALQUÍRIA MARIA SILVA DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO TP E TTPa EM  
PACIENTES EM USO DE ANTICOAGULANTE**

Monografia apresentada como requisito final para a obtenção do título de Especialista em Hematologia e Hemoterapia, concedido pelo Hemocentro do Ceará (HEMOCE) e pela Universidade Federal do Ceará - UFC.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves.

**Fortaleza – Ceará  
2005**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA**

**Título do Trabalho: Avaliação da estabilidade do TP e TTPa em pacientes em uso de anticoagulante.**

**Autora: Valquíria Maria Silva de Oliveira**

**Entrega em: / /**

**Conceito obtido: \_\_\_\_\_**

**Profª. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves - Orientadora**

**Conceito obtido: \_\_\_\_\_**

**Membro da Banca**

**Conceito obtido: \_\_\_\_\_**

**Membro da Banca**

**Conceito obtido: \_\_\_\_\_**

"Não se pode exigir qualidade total se não se partir do melhor e mais completo parâmetro que define a qualidade de vida: só seres humanos saudáveis (em todos os aspectos) vão levar as organizações do futuro ao sucesso."

Wilson Eleber Antunes Jacques

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, fonte inesgotável de amor e de misericórdia, por todos os dons que me concedeu, e por mais uma oportunidade de crescimento pessoal em busca de meus objetivos profissionais.

A minha orientadora Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves, pela acolhida, dedicação valiosa e participação efetiva na transmissão de conhecimento.

A Coordenação do Curso de Hematologia e Hemoterapia do HEMOCE.

A todos os professores do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia do HEMOCE, pelas sábias reflexões que nos ajudaram a compreender melhor a realidade.

A todos que direta ou indiretamente me ajudaram a tornar mais um sonho em realidade.

A minha comovida e especial gratidão a meu filho Lucas, pela vivência que me deu de ser criatura e criadora no mistério de gerar vida e experimentar o amor incondicional.

## RESUMO

A triagem laboratorial no diagnóstico de coagulopatias e no monitoramento dos pacientes em uso de anticoagulantes é realizada com os exames tempo de protrombina (TP) e com o tempo parcial de tromboplastina ativado (TTPa). Este estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade da amostra em relação ao tempo, em indivíduos normais e em pacientes em uso de marevan e heparina, no Serviço de Hematologia do Hospital Geral de Fortaleza, no período de janeiro a junho de 2005. Um total de 65 amostras foram obtidas sendo 25 de indivíduos normais, 20 de paciente em uso de marevan e 20 em uso de heparina. As amostras foram obtidas em tubo contendo como anticoagulante o citrato de sódio e imediatamente após a coleta foram centrifugadas. Foram realizados os exames TP e TTPa em 2 horas e de 12 a 24 horas. As amostras foram mantidas sem separação do plasma e à temperatura de 6°C a 8°C. Os testes foram realizado por metodologia semi-automática utilizando os seguintes aparelhos. Os dados mostraram que o TP teve o mesmo comportamento nos três grupos avaliados, ou seja, nas 24 horas houve uma diminuição da atividade e um aumento em segundos e no INR. Já o TTPa não apresentou um perfil padrão nos três grupos avaliados e a instabilidade com o tempo foi maior que no TP. Os nossos resultados são compatíveis com a literatura.

## **ABSTRACT**

The selection laboratorial in the coagulopatias diagnosis and in the patients' monitoramento in use of anticoagulants is accomplished with the exams time of protrombina (TP) and with the partial time of activated tromboplastina (TTPa). This study had as objective evaluates the stability of the sample in relation to the time, in normal individuals and in patients in marevan use and heparina, in the Service of Hematology of the General Hospital of Fortaleza, in the period of January to June of 2005. A total of 65 samples was obtained being 25 of normal individuals, 20 of patient in marevan use and 20 in heparina use. The samples were obtained in tube containing as anticoagulant the citrate of sodium and immediately after the collection they were centrifuged. The exams were accomplished TP and TTPa in 2 hours and from 12 at 24 hours. The samples were maintained without separation of the plasma and to the temperature from 6°C to 8°C. The tests were accomplished by semiautomatic methodology using the following apparels. The data showed that TP had the same behavior in the three appraised groups, in other words, in 24 o'clock there were a decrease of the activity and an increase in seconds and in INR. Already TTPa didn't present a standard profile in the three appraised groups and the instability with the time was larger than in TP. Our results are compatible with the literature.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
1. FATORES DE COAGULAÇÃO.....	13
1.1 Fator I (fibrinogênio).....	13
1.2 Fator II (protrombina).....	13
1.3 Fator III (tromboplastina tecidual).....	14
1.4 Fator IV (íons cálcio).....	14
1.5 Fator V (fator lável).....	15
1.6 Fator VI (fator estável).....	15
1.7 Complexo do Fator VIII / Fator von Willebrand.....	15
1.8 Fator IX (componente tromboplastínico do plasma).....	17
1.9 Fator X (fator Stuart).....	17
1.10 Fator XI (antecedente tromboplastínico do plasma).....	17
1.11 Fator XII (fator de Hageman).....	18
1.12 Cininogênio de alto peso molecular (fator Fitzgerald).....	18
1.13 Pré-calicreína (fator Fletcher).....	18
1.14 Fator XIII (fator estabilizador de fibrina).....	19
2. TESTES DA HEMOSTASIA.....	20
2.1 Tempo de Protrombina (TP).....	20
2.2 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa).....	21
2.3 Aplicação dos testes de hemostasia.....	22
2.3.1 Moléstias hemorrágicas.....	22
2.3.2 Nas hemorragias relacionadas com o ato cirúrgico...	23
2.3.2.1 Início da cirurgia.....	23
2.3.2.2 Durante a cirurgia.....	23
2.3.2.3 Pós-operatório.....	23
3. CINÉTICA DOS FATORES DA COAGULAÇÃO.....	24
4. MOLÉSTIAS HEMORRÁGICAS.....	26
5. DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO.....	27
5.1 Distúrbios da coagulação ligadas ao sexo.....	27
5.1.1 Hemofilia A.....	27

5.1.2 <i>Hemofilia B</i> .....	28
5.2 Distúrbios da coagulação adquiridos.....	28
5.2.1 <i>Deficiência da vitamina K</i> .....	28
5.2.2 <i>Doença hepática</i> .....	29
5.2.3 <i>Coagulação intravascular difusa</i> .....	29
 6. CONTROLE LABORATORIAL DA TERAPIA COM HEPARINA E CUMARINA.....	 31
6.1 Heparina.....	31
6.2 Cumarina.....	33
 7. OBJETIVOS.....	 35
7.1 Geral.....	35
7.2 Específicos.....	35
 8. MATERIAIS E MÉTODOS.....	 36
8.1 Desenho do estudo.....	36
8.2 Local do estudo.....	36
8.3 População do estudo.....	36
8.4 Seleção da amostra.....	36
8.5 Coleta de dados.....	37
8.5.1 <i>Fonte</i> .....	37
8.6 Descrição das variáveis.....	38
8.7 Análise estatística.....	38
8.8 Aspectos éticos.....	39
 9. RESULTADOS.....	 39
 10. DISCUSSÃO.....	 44
 CONCLUSÕES.....	 48
 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	 49

## LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Perfil dos participantes do estudo.....	40
Tabela 2 - Média e desvio padrão do TP em indivíduos normais.	40
Tabela 3 - Média e desvio padrão do TP em indivíduos em uso de marevan.....	40
Tabela 4 - Média e desvio padrão do TTPa em indivíduos normais	40
Tabela 5 - Média e desvio padrão do TTPa em indivíduos em uso de heparina.....	40
Gráfico 1 - Distribuição da população (normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao tempo de protrombina em atividade, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)	41
Gráfico 2 - Distribuição da população (normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao tempo de protrombina em segundo, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)	42
Gráfico 3 - Distribuição da população (normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao tempo de protrombina em INR, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta).....	42
Gráfico 4 - Distribuição da população (normais e em uso de heparina) em estudo quanto ao tempo parcial de tromboplastina em segundo, em relação ao tempo (2 e 24 horas de coleta).....	43
Gráfico 5 - Distribuição da população (normais e em uso de heparina) em estudo quanto ao tempo parcial de tromboplastina quanto à relação paciente/controle, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta).....	43

## 1. INTRODUÇÃO

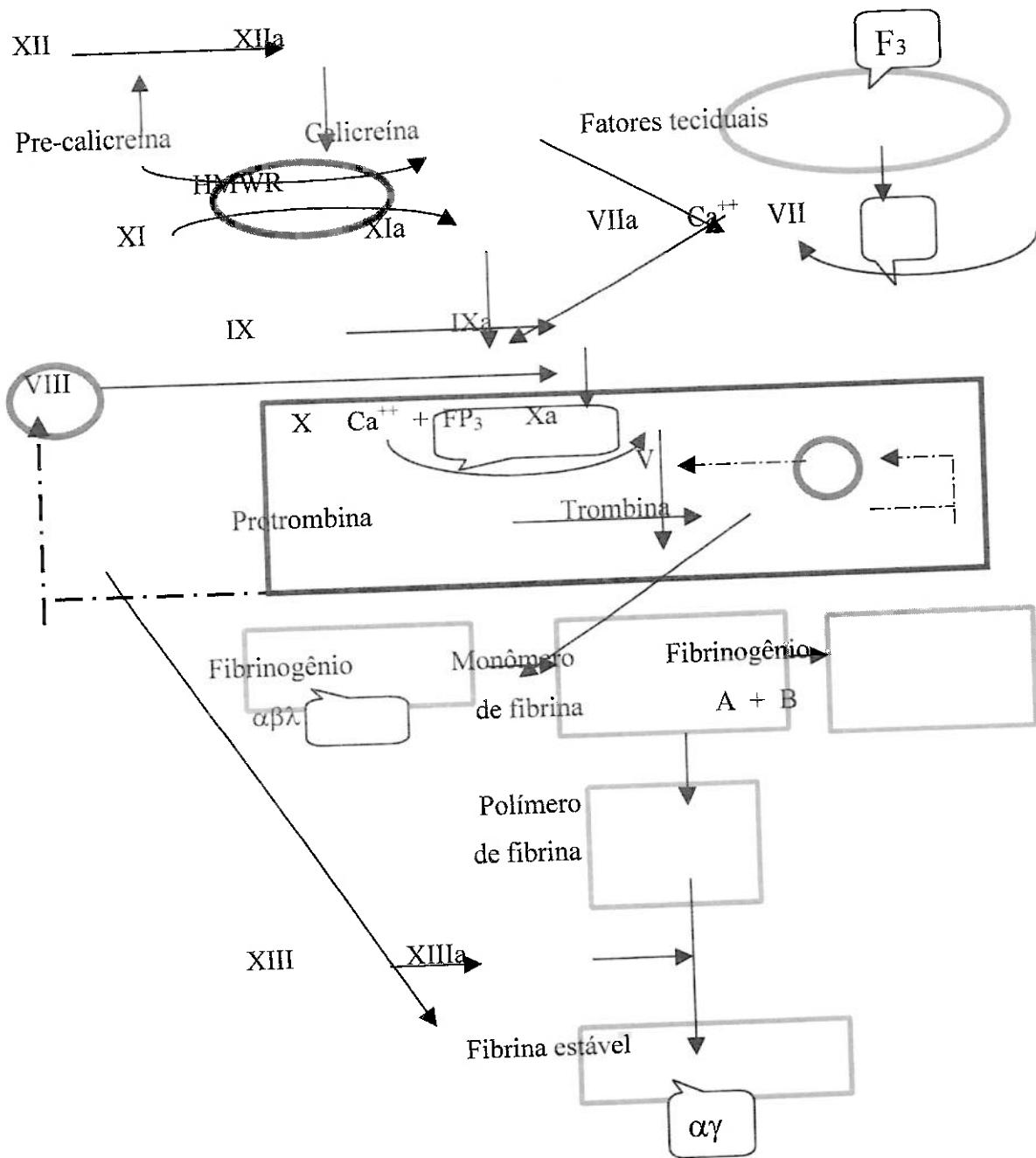
Hemostasia é um conjunto de mecanismos de que o organismo dispõe para manter o sangue fluido no interior dos vasos, impedindo de um lado as trombos, e de outro as hemorragias. Neste equilíbrio colaboram o fator vascular, o plaquetário, os fatores plasmáticos da coagulação e a fibrinólise. Assim as paredes dos vasos devem ser íntegras de forma a evitar a adesão das plaquetas e a ativação da coagulação (Macfarlane, 1974).

O tempo de latência que se observa no processamento das diversas etapas da coagulação do sangue é fator que previne a coagulação intravascular (Macfarlane, 1974). A presença dos anticoagulantes naturais como é o caso das antitrombinas, particularmente a antitrombina III, também é condição que restringe o excesso de coagulação. A vida média curta dos fatores plasmáticos da coagulação e a pequena sobrevida das plaquetas sugerem haver um consumo contínuo desses fatores com a formação de fibrina, que se depositando sobre o endotélio vai garantir a integridade vascular (referência).

A fibrinólise é o mecanismo antagônico que vai remover o excesso de fibrina depositada afastando o risco de trombose. Neste ponto a plasmina vai degradar a fibrina transformando-a nos diferentes fibrinopéptides que são encontrados no soro de indivíduos normais, mostrando desta forma a presença ativa deste mecanismo limitante da deposição de fibrina. Outro mecanismo que mantém a fluidez do sangue se faz pela interferência do sistema retículo endotelial (SER), o qual remove a fibrina, a tromboplastina e fatores ativados da coagulação. O desequilíbrio destes fatores pode ocasionar de um lado as hemorragias e de outro a coagulação intravascular disseminada com a deposição de fibrina e de células do sangue nas arteríolas, capilares e veias em diversos órgãos.

### VIA INTRÍNSECA

### VIA EXTRÍNSECA



CASCATA DA COAGULAÇÃO  
FATORES DA COAGULAÇÃO

- Fator I (Fibrinogênio)

O fibrinogênio é uma glicoproteína sintetizada no fígado. A etapa final no processo da coagulação consiste na conversão do fibrinogênio em fibrina, sob a influência da trombina. Pode ocorrer uma diminuição dos níveis plasmáticos de fibrinogênio em consequência de doenças hepáticas, ação de fibrinolisinhas (enzimas que destroem a fibrina e podem atacar o fibrinogênio) e conversão excessivamente extensa de fibrinogênio em fibrina para permitir uma reposição adequada de fibrinogênio. Em geral, a produção diminuída de fibrinogênio é devida a lesão dos hepatócitos, conforme observado na hepatite aguda e cirrose. Todavia como os mecanismos de produção são eficientes, é necessária a presença de um grau intenso de lesão hepática para o desenvolvimento de hipofibrinogêmia significativa. As fibrinolisinhas podem ser primárias ou secundárias. As fibrinolisinhas primárias são raras e atacam apenas o fibrinogênio. As fibrinolisinhas secundárias são mais comuns e atacam primariamente a fibrina, embora possam atacar também o fibrinogênio.

- Fator II (Protrombina)

A protrombina é uma proenzima sintetizada pelas células hepáticas. A parte da molécula de protrombina que permite funcionar na via da coagulação é formada com a ajuda da vitamina K. Na ausência da vitamina K, verifica-se a produção de uma variedade de moléculas de protrombina que são inativas. Existem duas formas de vitamina K: uma delas é pré-formada nos vegetais verdes e em alguns outros alimentos, enquanto a outra é sintetizada por bactérias do trato gastrointestinal. Ambas as formas são lipossolúveis e dependem da presença de sais biliares para a sua absorção. Por conseguinte, pode ocorrer deficiência de vitamina K devido à malabsorção de gordura, ou devido à incapacidade das bactérias do Trato Gastrointestinal de sintetizar esta substância (em consequência da antibioticoterapia prolongada). Em geral, é necessário um período de mais de três semanas para que ocorra depleção das reservas corporais de vitamina K.

Admitindo-se a disponibilidade de suprimento normais de vitamina K, outro fator limitante na formação da protrombina consiste na capacidade do fígado em sintetizá-la. Na presença de hepatopatia grave, ocorre destruição do parênquima em quantidade suficiente para reduzir de modo significativo a formação de protrombina, resultando finalmente em defeito clínico da coagulação. Enquanto a deficiência de vitamina K disponível responde imediatamente à administração parenteral da vitamina, a

hipoprotrombinemia devido a doença parenquimatoso do fígado responde inadequadamente a esta terapia.

- Fator III (Tromboplastina Tecidual)

A tromboplastina tecidual é constituída de fosfolipídios e lipoproteínas e pode ser extraída da maioria dos tecidos. A tromboplastina tecidual forma um complexo com o fator VII e íons cálcio, que inicia a via extrínseca da coagulação. Este complexo é utilizado como reagente no TP.

- Fator IV (Íons Cálcio)

O cálcio é necessário como co-fator em várias etapas da via da coagulação. Os anticoagulantes utilizados em hematologia (EDTA, Oxalato e Citrato), exercem seu efeito anticoagulante ao bloquearem a função do cálcio através da quelação deste.

- Fator V (Fator Lábil)

O fator V é sintetizado pelo fígado e é encontrado no plasma mas não no soro. É instável e sofre acentuada redução dentro de dois a três dias quando o sangue anticoagulado e refrigerado é conservado em banco de sangue. O TP está anormal na deficiência de fator V; o TTPa também está anormal na presença de deficiência grave, mas pode fornecer resultados normais em caso de deficiência leve.

- Fator VII (Fator Estável)

O Fator VII que depende da vitamina K para a sua atividade, é sintetizado no fígado. A meia-vida biológica do fator VII é de apenas 4 a 6 horas, representando assim o fator vitamina K dependente de sobrevida mais curta. Os antagonistas cumarínicos da vitamina K produzem um efeito de depleção mais rápido e mais pronunciado sobre o fator VII do que os demais fatores vitamina K dependentes. O fator VII ocorre no plasma e no soro e mostra-se estável em ambos. Na deficiência do fator VII o TP está anormal, enquanto o e o tempo de sangramento são normais.

- Complexo do Fator VIII/ Fator von Willebrand

No decorrer de muitos anos pesquisas demonstraram que o fator VIII não é uma molécula simples, porém um complexo com pelo menos dois componentes. Um dos componentes é a substância cuja deficiência produz hemofilia clássica este componente antigamente chamado globulina anti-hemofílica (AHG), é hoje em dia denominado fator VIII (ou fator anti-hemofilico). Para as finalidades dos testes de coagulação, o fator VIII (fator anti-hemofilico) é separado:

1. Na molécula de proteína do fator
2. Na sua atividade anticoagulante

Foram produzidos anticorpos contra proteína do fator VIII, atualmente conhecida como antígeno do fator VIII (ou VIII: Ag). Na atualidade, a atividade coagulante do fator VIII é designada por VIII: C. O segundo componente do complexo está associado à doença de von Willebrand e é denominado fator de von Willebrand (fvW). Foram também produzidos anticorpos contra a proteína do fator de von Willebrand, e este antígeno é atualmente denominado antígeno do fator de von Willebrand (ou fvW: Ag). Além disso, o fator de von Willebrand tem pelo menos duas ações ou atividades coagulantes: um efeito sobre a adesão das plaquetas, e um efeito sobre a agregação das plaquetas.

No homem, desconhece-se o local de síntese do fator VIII, enquanto o fator de von Willebrand é aparentemente sintetizado em células endoteliais e megacariócitos.

A doença hemorrágica conhecida como hemofilia está geralmente associada à deficiência de fator VIIIC. Pode ocorrer uma doença semelhante devido à deficiência de fator IX (uma forma semelhante, porém mais leve devido à deficiência de fator IX), de modo que a deficiência de fator VIIIC é algumas vezes denominada hemofilia A, enquanto a deficiência de fator IX é conhecida como hemofilia B.

O complexo fator VIII/ fvW é encontrado no plasma, mas não no soro. Tanto a atividade VIIIC quanto a do fvW são instáveis. A refrigeração ajuda a preservar a atividade do fator VIIIC; todavia, mesmo numa temperatura de 4°C, a atividade coagulante diminui de modo considerável dentro de 24:00h em amostras de plasma do laboratório. A congelação mantém a atividade do fator VIIIC quando efetuada pouco depois da coleta da amostra.

- Complexo do Fator VIII/ Fator von Willebrand

No decorrer de muitos anos pesquisas demonstraram que o fator VIII não é uma molécula simples, porém um complexo com pelo menos dois componentes. Um dos componentes é a substância cuja deficiência produz hemofilia clássica este componente antigamente chamado globulina anti-hemofílica (AHG), é hoje em dia denominado fator VIII (ou fator anti-hemofilico). Para as finalidades dos testes de coagulação, o fator VIII (fator anti-hemofilico) é separado:

1. Na molécula de proteína do fator
2. Na sua atividade anticoagulante

Foram produzidos anticorpos contra proteína do fator VIII, atualmente conhecida como antígeno do fator VIII (ou VIII: Ag). Na atualidade, a atividade coagulante do fator VIII é designada por VIII: C. O segundo componente do complexo está associado à doença de von Willebrand e é denominado fator de von Willebrand (fvW). Foram também produzidos anticorpos contra a proteína do fator de von Willebrand, e este antígeno é atualmente denominado antígeno do fator de von Willebrand (ou fvW: Ag). Além disso, o fator de von Willebrand tem pelo menos duas ações ou atividades coagulantes: um efeito sobre a adesão das plaquetas, e um efeito sobre a agregação das plaquetas.

No homem, desconhece-se o local de síntese do fator VIII, enquanto o fator de von Willebrand é aparentemente sintetizado em células endoteliais e megacariócitos.

A doença hemorrágica conhecida como hemofilia está geralmente associada à deficiência de fator VIIIC. Pode ocorrer uma doença semelhante devido à deficiência de fator IX (uma forma semelhante, porém mais leve devido à deficiência de fator IX), de modo que a deficiência de fator VIIIC é algumas vezes denominada hemofilia A, enquanto a deficiência de fator IX é conhecida como hemofilia B.

O complexo fator VIII/ fvW é encontrado no plasma, mas não no soro. Tanto a atividade VIIIC quanto a do fvW são instáveis. A refrigeração ajuda a preservar a atividade do fator VIIIC; todavia, mesmo numa temperatura de 4°C, a atividade coagulante diminui de modo considerável dentro de 24:00h em amostras de plasma do laboratório. A congelação mantém a atividade do fator VIIIC quando efetuada pouco depois da coleta da amostra.

- Fator IX (Componente Tromboplastínico do Plasma)

A deficiência de fator IX é herdada como caráter recessivo ligado ao cromossomo X. A síndrome de deficiência de fator IX é também denominada hemofilia B ou doença de Christmas. O fator IX é encontrado no plasma ou no soro, sendo estável em ambos.

O TTPa constitui um método padrão de triagem; todavia, alguns reagentes só detectam a deficiência quando corresponde a < 20% do normal. O TP está normal na deficiência do fator IX. Os níveis elevados de estrógenos podem elevar falsamente o fator IX.

- Fator X (Fator Stuart)

Este fator pertence a ambas as vias de coagulação: extrínseca e intrínseca. A deficiência é rara, sendo herdada como caráter autossômico recessivo. O fator X encontra-se presente no plasma e no soro, sendo estável em ambos. Tanto o TP quanto o TTPa estão anormais na deficiência do fator X.

- Fator XI (Antecendente Tromboplastínico do Plasma)

O fator XI é encontrado no plasma e no soro, sendo estável em ambos. O TTPa apresenta-se anormal, enquanto o TP e o tempo de sangramento são normais na deficiência do fator XI.

- Fator XII (Fator de Hageman)

O interesse pela deficiência do fator XII reside no papel de que este fator atua como ativador de contato de superfície da via intrínseca da coagulação. A via extrínseca não está afetada. A deficiência de fator XII produz deficiência da coagulação nos exames laboratoriais, que é particularmente pronunciada quando se utilizam materiais de ativação incluídos nos reagentes do teste (como TTPa) ou tubos de vidro (normalmente o vidro, ativa fortemente o fator XII). O TTPa e o tempo de coagulação do sangue estão anormais, enquanto o TP e o tempo de sangramento oferecem resultados normais. O diagnóstico pode ser confirmado através do TTPa com reagente

de plasma deficiente em fator XII obtido comercialmente. Foi registrado que os pacientes com deficiência de fator XII possuem uma incidência aumentada de infarto do miocárdio e trombose.

- Cininogênio de Alto Peso Molecular (Fator Fitzgerald)

Este fator pertence ao sistema da calicreína, que afeta o fator XII na via intrínseca da coagulação e que também desempenha algum papel na resposta inflamatória do organismo. O TTPa e o tempo de coagulação do sangue total estão anormais, enquanto o TP e o tempo de sangramento fornecem valores normais na deficiência deste fator.

- Pré- calicreína (Fator Fletcher)

Esta coenzima constitui a parte central do sistema da calicreína. A deficiência de pré-calicreína não predispõe o indivíduo à ocorrência de sangramento anormal. O tempo de coagulação do sangue total apresenta anormal, enquanto o TP e o tempo de sangramento são normais. O TTPa fornece resultados anormais quando se utilizam ativadores particulados, como sílica ou caolin; todavia, mostra-se normal quando são utilizados ativadores solúveis.

- Fator XIII (Fator Estabilizador de Fibrina)

A deficiência de fator XIII é transmitida como caráter autossômico recessivo. Com frequencia, o sangramento é observado pela primeira vez no recém-nascido. Mais tarde, os episódios hemorrágicos são geralmente leves, exceto quando relacionados com traumatismo grave ou cirurgia. Todos os testes habituais de coagulação (TP, TTPa e tempo de sangramento) estão normais, mesmo na deficiência congênita. Pode-se estabelecer o diagnóstico baseando-se no fato de que os coágulos de fibrina de indivíduos deficientes em fator XIII são solúveis em certas concentrações e uréia, enquanto o coágulo de pessoas normais não o são.

## TESTES DA HEMOSTASIA

### Tempo de Protrombina (TP)

É um teste de triagem para avaliação do mecanismo extrínseco da coagulação. É o tempo necessário para que o plasma coagule na presença de fator tecidual e cálcio. O complexo formado entre o fator tecidual, o fator VII plasmático e o cálcio, ativa diretamente o fator X.

O tempo de protrombina é utilizado em 3 ( três ) situações:

1. Monitorização da terapia anticoagulante com cumarínicos.
2. Triagem geral para distúrbios do sistema de coagulação.
3. Prova de função hepática.

Ao plasma é adicionado tromboplastina tecidual completa, juntamente com o cálcio (a tromboplastina completa contém material de origem tecidual que ativa o sistema extrínseco da coagulação, bem como fosfolipídios, que atuam como substituto plaquetário).

O produto terminal consiste na formação de um coágulo de fibrina. O TP indica principalmente a existência de defeitos no sistema extrínseco da coagulação (protrombina e fatores V, VII e X). Se o defeito no fibrinogênio for grave, ele também irá produzir resultados anormais no TP, uma vez que o teste depende de um mecanismo intacto da fibrina para produzir o coágulo.

Os defeitos plaquetários ou dos fatores do sistema intrínseco antes do estágio de conversão da protrombina em trombina não afetam o TP, visto que o reagente tromboplastínico completo ativa o sistema extrínseco da coagulação, transpondo o sistema intrínseco.

A teoria da coagulação considera a conversão da protrombina em trombina como a principal reação diretamente afetada pela atividade da tromboplastina, e, assim, a protrombina é comumente considerada como o principal agente medido no TP. Na verdade o teste é muito mais sensível ao fator VII do que à protrombina. Clinicamente, esse aspecto faz pequena diferença, uma vez que tanto o fator VII quanto a protrombina estão alterados nos dois principais distúrbios que afetam o sistema extrínseco – cirrose e deficiência de vitamina K. A interferência no metabolismo da vitamina K é mais freqüentemente induzida por medicamentos (anticoagulantes cumarínicos) ou, com

menos freqüência, uso de certos antibióticos à base de cefalosporinas, ou ainda, secundária a malabsorção.

O TP poderá ser afetado pela heparina se o nível sangüíneo estiver suficientemente elevado.

Os níveis usuais associados à IV contínua de heparina geralmente não prolongam o TP de modo significativo.

#### Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa)

Esta prova mede o mecanismo intrínseco da coagulação. Avalia todos os fatores com exceção do VII e XIII.

Ao plasma do paciente é adicionado um reagente de tromboplastina incompleto juntamente com cálcio, e determina-se o tempo necessário para a formação de um coágulo de fibrina. O reagente para o tempo de tromboplastina parcial consiste num substituto plaquetário fosfolipídico, sem qualquer outro componente de tromboplastina. O TTP mostrava-se útil para detectar anormalidades dos fatores intrínsecos, porém era relativamente insensível aos efeitos da heparina . Verificou-se que a adição de certos ativadores de contato (geralmente substância química ou matéria particulada, como o caolim) ao reagente de TTP ativa o fator XII (fator de contato) rapidamente e de modo uniforme, eliminando assim outra variável no processo da coagulação. Além disso, foi constatado que o TTPa ativado é sensível à heparina .

O TTPa mostra-se muito sensível a deficiências de fatores da coagulação do sistema intrínseco antes da etapa de conversão da protrombina em trombina. Além disso pode ser anormal nas deficiências de protrombina ou de fibrinogênio, porém apenas se o defeito for relativamente grave. O TTPa não é tão sensível às anormalidades da protrombina como o TP porque a tromboplastina extrínseca utilizada na determinação do TP é mais potente do que o complexo ativador de protrombina do sistema intrínseco produzido pelo TTPa, de modo que o TP tem capacidade de demonstrar defeitos relativamente menores na protrombina. As anormalidades das plaquetas não influenciam o TTPa.

#### APLICAÇÕES DOS TESTES DE HEMOSTASIA

1. Moléstias Hemorrágicas: são utilizados no rastreamento das moléstias hemorrágicas (púrpuras e coagulopatias). E com esta finalidade usa-se fazer: TS (teste de sangria), TC (tempo de coagulação), RC (retração do coágulo), PL (prova do laço), TAP e TTPa. TC, RC, PL - embora atualmente poucos laboratórios utilizem estes testes em virtude de sua grande causa de erro, eles foram substituídos pelos testes semi-analíticos, TP e TPTa que são mais sensíveis e precisos. Estes testes permitem situar qual dos mecanismos da hemostasia está deficiente (vaso, plaqueta, coagulação, fibrinólise).

Não podemos deixar de mencionar que o Tempo de Coagulação, Retração do coágulo e Prova do Laço são atualmente utilizados por poucos laboratórios em virtude de sua grande causa de erros. Estes testes foram substituídos pelos testes semi-analíticos, TP e TTPa que são mais sensíveis e precisos.

## 2. Nas Hemorragias Relacionadas com o Ato Cirúrgico

2.1- Início da cirurgia- fato que por si só sugere que o paciente já era portador de deficiência da hemostasia, que se manifesta por hemorragia assim que o fator vascular está sendo lesado pelo bisturi do cirurgião. É sempre consequência do estudo inadequado do pré operatório.

2.2- Durante a cirurgia- como os pacientes estavam em perfeitas condições antes da cirurgia (pré-operatório) a hemorragia poderá surgir devido:

- 2.2.1- vaso aberto e não ligado
- 2.2.2- coagulação intravascular disseminada
- 2.2.3- fibrinólise primária

2.3- Pós operatório- é a situação mais freqüente de hemorragia relacionada ao ato cirúrgico, pode surgir por:

- 2.3.1- vaso aberto
- 2.3.2- coagulação intravascular disseminada
- 2.3.3- fibrinólise primária
- 2.3.4- neutralização insuficiente da heparina
- 2.3.5- excesso de protamina
- 2.3.6- hemofilia

## CINÉTICA DOS FATORES DA COAGULAÇÃO

O fígado é o local provável da síntese de todos os fatores da coagulação, talvez com exceção do Fator VIII. As células endoteliais sintetizam o Fator VIII antigenico e o fator de von Willebrand. O sítio exato onde se dá a síntese da porção pró-coagulante do Fator VIII não é ainda conhecido ( Jaffe, 1973 ). Também, existem provas de que a cadeia alfa do Fator XIII presente de forma característica nas plaquetas pode ser produzida nos megacariócitos. Contudo, o Fator XIII plasmático contendo cadeias alfa e beta é provavelmente sintetizado no fígado ( McDonagh, 1972 ).

Os Fatores II, VII, IX, e X requerem vitamina K para a sua síntese no fígado com formação de um pró- coagulante funcional ( Suttie, 1973 ). Foi demonstrado que a vitamina K é necessária para a carboxilação dos resíduos de ácido glutâmico existente nas proteínas precursoras para a formação de resíduos gama-carboxiglutamil ( Suttie, 1977 ). Essa demonstração sugere que durante o processo de ativação os Fatores II, VII, IX e X estão ligados aos fosfolipídios servindo o íon cálcio como ponte entre os resíduos de ácido gama-carboxiglutâmico presentes nos pró-coagulantes e os grupos com carga negativa presentes nos fosfolipídios. Sem a carboxilação dos resíduos de ácido glutâmico ou a presença dos íons cálcio, a proteína precursora não se liga ao fosfolipídio não ocorrendo, portanto, ativação ( Jackson, 1977 ). As proteínas precursoras são chamadas Proteínas Induzidas pela Ausência de Vitamina K ( proteínas PIAVK ) ( Hemker, 1968 ) e a sua presença no plasma pode ser medida por técnicas imunológicas ( Ganrot, 1968 ). Assim, a atividade funcional mas não imunológica dos Fatores II, VII, IX e X está reduzida nos pacientes com deficiência de vitamina K ou nos pacientes que estão tomando drogas cumarínicas.

A concentração plasmática dos pró-coagulantes está relacionada com a sua velocidade de síntese, velocidade de destruição e distribuição no volume extravascular.

Os Fatores I, V, VIII e XIII são consumidos no decorrer do processo de coagulação. Por conseguinte estes fatores não estão presentes no soro. Eles não dependem da vitamina K para a sua atividade.

## MOLÉSTIAS HEMORRÁGICAS

As moléstias hemorrágicas podem ser classificadas clinicamente e laboratorialmente em púrpuras e coagulopatias.

Púrpuras são moléstias hemorrágicas caracterizadas pelo aparecimento de petéquias e ou equimoses na pele e nas mucosas. Elas ocorrem quer por alterações do fator vascular, quer por alteração do fator plaquetário. São dois distúrbios da hemostasia de vasos de pequeno calibre.

As coagulopatias são moléstias hemorrágicas caracterizadas clinicamente pelo aparecimento de hematomas subcutâneos, intramusculares, perdas sanguíneas mais intensas e que ocorrem por deficiência do mecanismo da coagulação sanguínea. São distúrbios da hemostasia dos vasos de médio calibre. Podem ser classificadas em hereditárias e adquiridas.

As coagulopatias hereditárias são, na maioria das vezes, deficiências isoladas de apenas um fator de coagulação, sendo que o grupo das hemofilias representam aproximadamente 95% de todas as coagulopatias.

As coagulopatias adquiridas podem surgir por falta de produção no fígado (cirrose), deficiência em matéria-prima (vitamina K), excesso de consumo (coagulação intravascular disseminada) e destruição de fatores (fibrinólise patológica).

Tais fatos dificultam qualquer classificação das coagulopatias, mas podemos afirmar que com exceção dos fatores XII, IV e III, todos os demais, quando deficientes, causam moléstias hemorrágicas.

## DISTÚRBIOS DA COAGULAÇÃO

### 1. Distúrbios da Coagulação Ligadas ao Sexo

1.1- Hemofilia A: é transmitida hereditariamente como caráter recessivo ligado ao sexo. Este distúrbio resulta da síntese de uma molécula disfuncional de Fator VIII. Os casos graves de hemofilia têm menos de 1% de Fator VIII funcional. Estes indivíduos têm hemorragias espontâneas no começo da infância. Eles sofrem hemartroses múltiplas que freqüentemente resultam em anquiloses das grandes articulações e destruição das pequenas articulações. Hemorragias espontâneas podem ocorrer para áreas subcutâneas, tecidos intramusculares, compartimento retroperitoneal, aparelhos gastrointestinal e gênito-urinário e cérebro. Nos casos de gravidade moderada, os níveis de Fator VIII funcional variam de 1 a 5% do normal. Nestes indivíduos é raro

o aparecimento de hemorragias espontâneas, hemartroses e anquiloses. Contudo, os pacientes podem sofrer graves hemorragias após traumas mínimos. Os indivíduos ligeiramente afetados (5 a 25%) de Fator VIII sofrem raramente episódios hemorrágicos a não ser que sofram grandes intervenções cirúrgicas ou traumas intensos. Os portadores do sexo feminino têm um nível médio de Fator VIII de 50% do normal (Zimmerman, 1971). Estas mulheres não apresentam geralmente manifestações clínicas da doença hemorrágica. O tempo de sangria e o tempo de protrombina são normais. O tempo de coagulação do sangue total está aumentado somente nos pacientes gravemente afetados. O tempo de tromboplastina parcial está prolongado em pacientes com hemofilia mas é habitualmente normal nos portadores do sexo feminino.

1.2- Hemofilia B: a hemofilia B ou doença de Christmas é transmitida hereditariamente como caráter recessivo ligado ao sexo. As manifestações clínicas da doença de Christmas são idênticas às da hemofilia A (Aggeler, 1952; Biggs, 1952). A doença de Christmas é causada por qualquer uma de diversas variantes anormais da molécula do Fator IX. Nas provas laboratoriais para o diagnóstico da doença de Christmas o tempo de sangria, o tempo de protrombina e o tempo de trombina são normais. O tempo de tromboplastina parcial está aumentado.

## 2. Distúrbios da Coagulação Adquiridos

2.1- Deficiência da Vitamina K: a vitamina K é necessária para a atividade de uma carboxilase hepática que é fundamental para a conversão das proteínas precursoras dos Fatores II, VII, IX e X em pró-coagulantes biologicamente ativos. Quando há deficiência de vitamina K o fígado sintetiza proteínas pró-coagulantes disfuncionais que podem ser detectadas por métodos imunológicos e que podem atuar como inibidores da coagulação. A vitamina K tem origem nos alimentos e na ação de síntese das bactérias do intestino. A vitamina K é lipossolúvel e requer a presença de ácidos biliares para que seja absorvida (Bowie, 1977).

Os estados de deficiência de vitamina K associam-se a vários distúrbios. A Doença Hemorrágica do Recém-nascido é uma doença que ocorre em recém-nascidos com 3 a 5 dias. Este distúrbio é caracterizado por hemorragias no trato gastrointestinal, no coto umbilical e na pele. Nos casos não tratados a taxa de mortalidade varia de 5 a 30% (Shapiro, 1977).

Pacientes com desnutrição a quem se administram antibióticos que esterilizam o intestino podem desenvolver deficiência de vitamina K. Além disso o Warfarin e outras drogas cumarínicas interferem na função da vitamina K e na síntese dos pró-coagulantes do complexo da protrombina.

2.2- Doença Hepática: Hemorragias ocorrem com freqüência em pacientes com doença hepática grave. As anormalidades da coagulação associada a disfunção hepática são muito diversas devido ao fígado desempenhar numerosas funções no sistema de coagulação. O fígado é o local de síntese da maior parte senão da totalidade dos fatores de coagulação. O plasminogênio, as antitrombinas e as antiplasminas são também sintetizadas no fígado. Além disso o fígado tem um importante papel na remoção da circulação de fatores da coagulação ativados (Roberts, 1972).

À medida que a disfunção hepática se desenvolve verifica-se uma diminuição gradual dos fatores K-dependentes. Nos pacientes com insuficiência hepática aguda existe uma boa correlação entre o nível de Fator VII e a recuperação.

2.3- Coagulação Intravascular Difusa: é uma síndrome hemorrágica que ocorre após ativação não controlada dos pró-coagulantes e das enzimas fibrinolíticas nos microvasos. Nesta doença a fibrina deposita-se nos pequenos vasos causando lesão ou necrose dos tecidos (Rapaport, 1977). As plaquetas e os pró-coagulantes são consumidos pelo processo de coagulação verificando-se depleção de seus níveis no sangue (Rodriguez-Erdmann, 1965). Este distúrbio é ainda mais complicado pela presença de plasmina, uma poderosa enzima proteolítica. A plasmina digere o fibrinogênio e os coágulos de fibrina liberando produtos de degradação de fibrinogênio/fibrina (PDF) que inibem a polimerização da fibrina. A CID pode ser localizada ou generalizada, aguda ou crônica.

No diagnóstico laboratorial o tempo de coagulação do sangue total, o tempo de trombina, o tempo de protrombina e o tempo de tromboplastina parcial estão aumentados. Existe geralmente uma acentuada redução do fibrinogênio e dos Fatores V, VIII e XIII. Há também uma diminuição na contagem das plaquetas (trombocitopenia).

#### CONTROLE LABORATORIAL DA TERAPIA COM HEPARINA E CUMARINA

Heparina: é um mucopolissacarídio ácido, constituída por subunidades de ácido urônico e de glicosamida. A heparina existe normalmente nos mastócitos localizados no fígado, pulmão e intestino do homem e de vários animais (Jaques, 1977).

A heparina é um anticoagulante poderoso. A sua ação é de catalização das ações de neutralização da antitrombina III sobre os Fatores ativados IX, X e XI, trombina e plasmina. A heparina também inibe a agregação plaquetária induzida pela trombina.

A heparina é removida da circulação pela depuração renal e por inativação no fígado. A meia-vida da heparina no sangue é de geralmente 90 minutos, com uma zona de variação de 30 a 360 (Genton, 1974). A meia-vida é dependente da dose. Quando 3.000 unidades de heparina são injetadas por via intravenosa a meia-vida é de 40 minutos, mas quando 10.000 unidades são administradas por via intravenosa a meia-vida estende-se de 69 a 83 minutos.

Dado que a ação da heparina neutraliza múltiplos fatores verifica-se um prolongamento de várias provas da coagulação. É característico encontrar um prolongamento do tempo de coagulação do sangue total, do tempo de recalcificação do plasma, do tempo de tromboplastina parcial, do tempo de protrombina e do tempo de trombina. Contudo não existe uma prova que seja completamente satisfatória para a monitorização *in vivo* da heparina. De forma tradicional os médicos concordam que em que se deve administrar a quantidade necessária de heparina para prolongar o tempo de coagulação do sangue total de 1,5 a 3 vezes o valor de controle (Wintrobe, 1974).

O tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) tem ganho popularidade como uma prova eficaz para o seguimento de paciente submetido à terapêutica com heparina. O TTPa é mais reproduzível e tem ponto final mais rápido que o da coagulação do sangue total (Colman, 1970). Dado que o TTPa é geralmente realizado com sangue em que se usou como anticoagulante o citrato de sódio, a determinação pode ser feita num laboratório central em ocasião conveniente. Há, portanto, dificuldades nesta prova. Os reagentes para determinação do tempo de tromboplastina parcial ativada que existem no comércio diferem consideravelmente na sua sensibilidade à heparina. O TTPa pode ser infinito quando existem concentrações elevadas de heparina (Reno, 1974), de forma que os níveis máximos para monitorização da heparina são limitados.

Durante o armazenamento de alguns tubos para coleta se sangue à vácuo existentes no comércio, o citrato, que é o anticoagulante, desenvolve de forma constante

uma substância com atividade antiheparínica e que interfere na monitorização da heparina (Hirsh, 1976).

Atualmente não existe uma concordância geral entre os autores em relação a um método que seja realmente superior para a monitorização da terapia com heparina. Se se selecionar uma prova de coagulação para a monitorização dos pacientes submetidos a terapia com heparina, é necessário estabelecer controles especiais para a prova de coagulação.

Se se usar um tubo com vácuo e contendo anticoagulante para a coleta de sangue , é fundamental que não haja atividade antiheparínica.

Cumarina: todas as drogas normais da síntese normal dos pró-coagulantes dependentes de vitamina K derivam quer da 4-hidroxi-cumarina quer das 1,3-indanodionas (Levine,1975). Estas drogas são absorvidas pelo sistema gastrointestinal fixando-se em seguida às proteínas (principalmente a albumina) presentes no plasma. As drogas são transportadas até ao fígado onde sofrem hidroxilação e talvez conjugação com ácido glicurônico (O'Reilly, 1976). Elas são depois excretadas na bile, desconjugadas no trato gastrointestinal e reabsorvidas para o sangue. Finalmente as drogas são reexcretadas na urina como metabólitos não conjugados e hidroxilados. A velocidade metabólica depende dos indivíduos e de vários preparados para uso oral. A meia-vida média do warfarin no plasma é de 42 horas, com uma zona de variação de 15 a 58 horas. Assim, as doses e o controle da terapia com warfarin devem ser de acordo com o indivíduo (O'Reilly, 1976).

A cumarina e as drogas do grupo indanodiona atuam na célula hepática comprometendo a função da vitamina K na síntese dos Fatores II, VII, IX e X.

Foi demonstrado que a vitamina K é um co-fator de uma carboxilase das proteínas precursoras da protrombina e provavelmente dos Fatores VII, IX e X. Sem o passo da descarboxilase os Fatores II, VII, IX e X circulam como proteínas não funcionais que podem interferir na coagulação normal (Jackson, 1977).

O mecanismo pelo qual o warfarin inibe a função da vitamina K não é claro; muitas teorias têm sido propostas para explicar a sua ação. A hipótese mais atraente sugere que a vitamina K é normalmente convertida em epóxido de vitamina K e depois reduzida à sua forma ativa por ação de uma redutase antes de atuar como um co-fator da carboxilase. O warfarin parece inibir a redução do epóxido, reduzindo assim o nível de vitamina K disponível sob a forma ativa (Suttie, 1977).

A regulação da terapia depende da monitorização laboratorial para a determinação do grau de hipocoagulação. A determinação da protrombina em um tempo contínuo sendo o método mais popular e confiável para o seguimento dos pacientes submetidos à terapia com drogas cumarínicas.

A anticoagulação com cumarina é afetada por diversas situações. A deficiência de vitamina K, a insuficiência hepática e os estados hipermetabólicos fazem aumentar a resposta às drogas cumarínicas. Em contraste os pacientes com mixedema necessitam uma dose mais elevada de anticoagulantes orais (O'Reilly, 1974).

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo Geral:

Este estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade do plasma citratado com relação ao tempo de coleta nos exames TAP e TTPa.

### Objetivos Específicos:

- Verificar a estabilidade do plasma citratado mantido em temperatura (6 a 8°C) por um período de 12:00 a 24:00h.
- Verificar se a constante de variação é a mesma para pacientes normais, marevan e heparina.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Desenho do Estudo**

Trata-se de estudo observacional descritivo com um total de 65 participantes, sem 25 considerados normais, 20 em uso de marevan e 20 em uso de heparina (homens e mulheres acima de 35 anos com valores normais de hematócrito).

#### **3.2. Local do estudo**

O estudo foi desenvolvido no laboratório Hospital Geral de Fortaleza, em Fortaleza, Ceará.

#### **3.3. População do estudo**

Foram incluídos no estudo 65 indivíduos, sendo 25 provenientes de pacientes de ambulatório realizando coagulograma como requisito para pré-operatório, 20 indivíduos portadores de coagulopatias em uso crônico de marevan também proveniente de ambulatório e 20 pacientes em uso de heparina internados na UTI do hospital acima referido.

#### **3.4. Seleção da amostra**

**Critérios de Inclusão:** foram incluídos no estudo indivíduos de ambos os normais, sem uso de medicação anticoagulantes ou qualquer outro medicamento (normais), pacientes em uso de marevan ou heparina.

**Critérios de Exclusão:** foram excluídos os pacientes multimedicamentosos e em uso concomitante de marevan e heparina.

### 3.4. Coleta de Dados:

A coleta foi realizada utilizando-se para cada paciente dois tubos (13 x 75 mm) Vacutainer, de aspiração total com citrato de sódio (0,105 M – 3,2%). Imediatamente após a coleta as amostras foram centrifugadas em centrífuga não refrigerada por 15 minutos a 3000 rpm. Os tubos para análise foram mantidos fechados e a temperatura de 6 a 8°C. No decorrer das 2 horas foi realizado o primeiro exame. E no período de 24 horas foram realizados os exames com o outro tubo. O TP e TTPA foram realizados por metodologia semi-automatizada utilizando os aparelhos Centrífuga Fanem Mod. 206R e Coagulômetro Fibrinometer II Behring. Os reagentes utilizados foram: TP – Tromboplastina – Neoplastine (Diagnóstica Itago) 1-991872, ISI 1,24 e para TTPa – Cefalina Plantelin LS – L-161439 Organon - Tecnika

#### 3.4.1. Fonte

Considerou-se como principal fonte de dados o prontuário. Quando o mesmo não apresentava todas as informações necessárias à pesquisa, a consulta estendia-se ao mapa mensal de resumo dos resultados dos exames laboratoriais.

### 3.5. Descrição das Variáveis

Variáveis Relacionadas ao Armazenamento.

- Tipo de medicação: marevan ou heparina.
- Tempo de Protrombina (TP): Variável quantitativa contínua expressa em segundo ou atividade ou INR.
- Tempo Parcial de Tromboplastina (TTPa): Variável quantitativa contínua expressa em %.

### **3.6 Análise Estatística**

Os resultados foram submetidos à análise estatística do Microsoft EXCEL® onde foram determinadas as médias, mínimos, máximos e desvio padrão.

### **3.7 Aspectos Éticos**

Antes de iniciar a coleta dos dados o projeto de pesquisa foi apresentado ao Comitê de Ética do Hospital Geral de Fortaleza.

#### 4. RESULTADOS

Para melhor compreensão e análise dos resultados obtidos estes foram submetidos a estudos estatísticos os quais estão representados em tabelas e gráficos.

Na Tabela 1 observamos os valores do INR e o percentual nos pacientes normais e patológicos com o sangue colhido até 2:00h após a coleta.

Na Tabela 2 observamos os valores do INR e o percentual nos pacientes normais e patológicos com o sangue colhido entre 16:00 a 20:00h após a coleta.

Na Tabela 3 e nos Gráficos 1 e 2 apresenta o grau de variação entre os diferentes tempos estudados nos pacientes normais e patológicos.

No Gráfico 3 observamos a variação estatística entre os pacientes normais e patológicos nos diferentes tempos estudados.

**Tabela I:** Perfil dos participantes do estudo

Participantes	n	%
Normais	25	38,4
Marevan	20	30,8
Heparina	20	30,8
Total	65	100

**Tabela II:** Média e desvio padrão do TP em indivíduos normais

	segundos	Atividade	INR
2hs	13,42 ±0,54	86,87 ±4,67	1,051±0,043
24hs	14,05±0,54	84,01±7,12	1,097±0,043

**Tabela III:** Média e desvio padrão do TP em indivíduos em uso de marevan

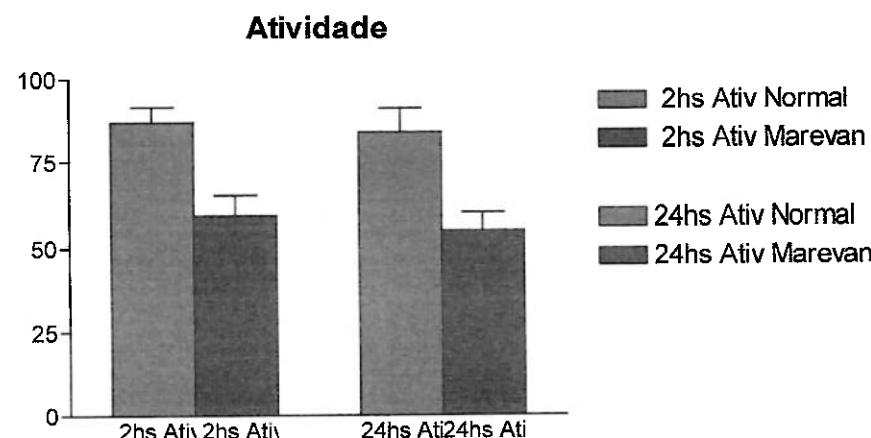
	segundos	Atividade	INR
2hs	16,85±1,77	59,53±5,93	1,43±0,12
24hs	17,66±1,69	55,18±5,25	1,49±0,14

**Tabela IV:** Média e desvio padrão do TTPa em indivíduos normais

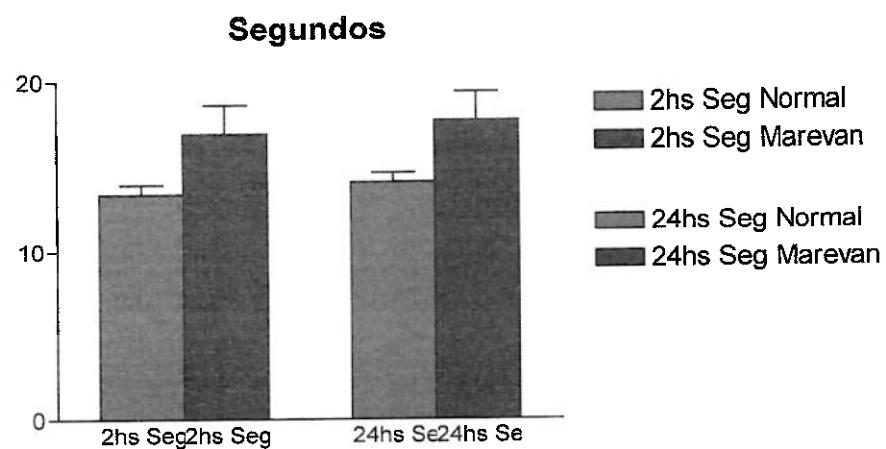
	segundos	Relação
2hs	38,02+3,68	1,52+0,11
24hs	39,25+2,69	1,21+0,10

**Tabela V:** Média e desvio padrão do TTPa em indivíduos em uso de heparina

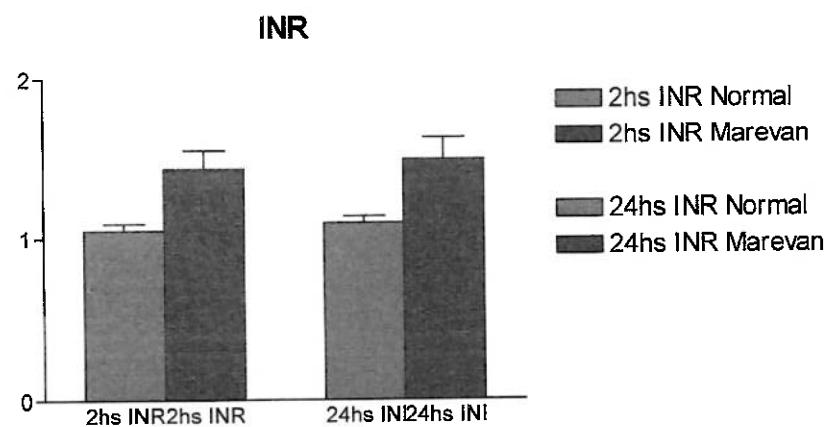
	segundos	Relação
2hs	44,43+ 1,76	1,377+0,094
24hs	47,42+ 3,57	1,437+0,109



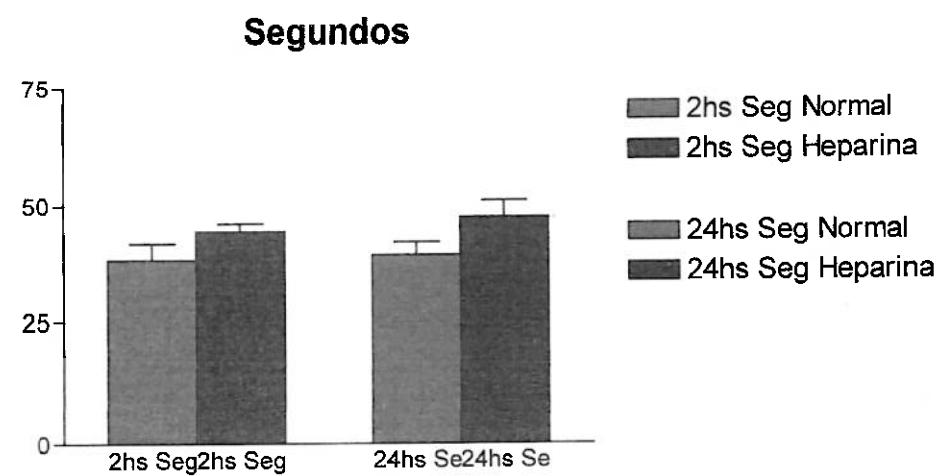
**Gráfico 1:** Distribuição da população (normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao Tempo de protrombina em atividade, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)



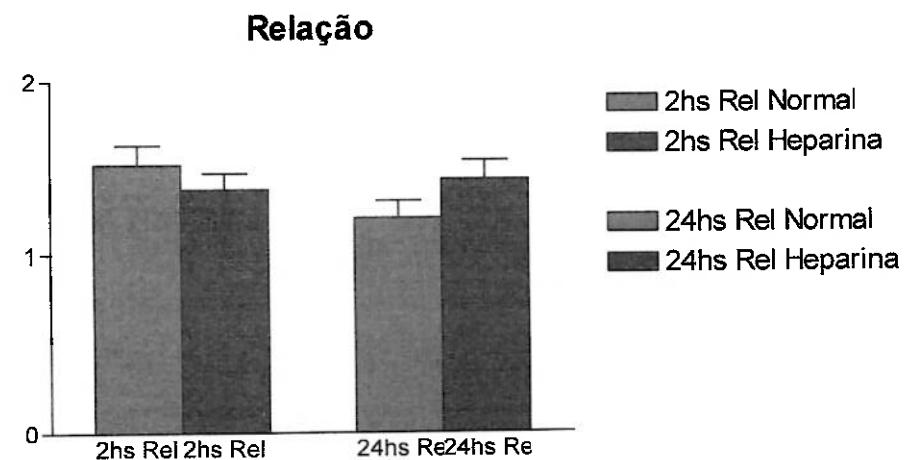
**Gráfico 2:** Distribuição da população(normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao Tempo de protrombina em segundo, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)



**Gráfico 3:** Distribuição da população(normais e em uso de marevan) em estudo quanto ao Tempo de protrombina em INR, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)



**Gráfico 4:** Distribuição da população(normais e em uso de heparina) em estudo quanto ao Tempo de Parcial de Tromboplastina em segundo, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)



**Gráfico 4:** Distribuição da população(normais e em uso de heparina) em estudo quanto ao Tempo de Parcial de Tromboplastina quanto à relação paciente/controle, em relação ao tempo (2 e 24 horas da coleta)

## 5. DISCUSSÃO

O tempo de protrombina (TP) e o Tempo parcial de Tromboplastina são testes laboratoriais utilizados com triagem no diagnóstico de coagulopatias e no monitoramento da terapia com anticoagulantes. A recente expansão de serviços de coleta, nos laboratórios de Análises Clínicas tem questionado ainda mais as condições pré-analíticas (coleta, identificação, tempo, armazenamento, transporte, outros) das amostras. Embora existam as normas de padronização preconizadas pela NCCLS para o armazenamento das amostras é freqüente resultados espúrios para TP e TTPa devido a diferentes tempos de estocagem. O objetivo do presente estudo foi determinar o efeito da duração da estocagem para o TP e TTPA usando sangue total centrifugado em indivíduos normais e em uso de anticoagulantes..

Os exames TP e TTPa são testes que avaliam os fatores da cascata da coagulação. O TTPa é baseada no tempo de recalcificação do plasma, que abrange todas as três fases da coagulação, sendo capaz, portanto, de detectar anormalidades na via intrínseca da coagulação. O caulim ativo o fator contacto (XII), o qual ativa os outros fatores do sistema intrínseco (XI, IX e VIII), bem como os que são comuns aos dois sistemas (X, V, II e I). Portanto, qualquer anormalidade nesses fatores ocasionará alongamento do TTPa. As anormalidades dos fatores VII, XIII e das plaquetas não são acusadas por esta prova. Cifras aumentadas são encontradas nas hemofilias, na doença de von Willebrand, na CIVD e na deficiência do complexo protrombínico (Miller et al., 1984).

O tempo da protrombina em um estágio é usado para detectar deficiências congênitas ou adquiridas dos fatores pertencentes ao sistema extrínseco da coagulação. Este sistema inclui os fatores VII, X, V, II e I. Embora o sistema extrínseco inclua também o fator III (tromboplastina tecidual), este não é medido pelo tempo de protrombina em um estágio (Miller et al., 1984).

Como os fatores deprimidos pelos anticoagulantes orais pertencem em sua maioria ao sistema extrínseco, depreende-se que o tempo de protrombina é a prova de escolha para o controle da terapia por anticoagulantes orais (Miller et al., 1984).

Foram estudados 65 pacientes, sendo 25 (35,9%) considerados normais com relação ao TAP e TTPa, 20 (%) em uso de marevan e 20 ( ) em uso de heparina (Tabelas I e II).

Os resultados demonstram que ocorreu uma variação (atividade, segundo e INR) no TP com o tempo de armazenamento tanto nos indivíduos normais quanto nos pacientes em uso de Marevan, valendo ressaltar a variação foi maior no último grupo. De acordo com Guder, W.G. et al a refrigeração afeta os fatores VII, XI e XII os quais são ativados pelo frio, portanto o armazenamento a frio tende a diminuir a atividade do TP.

Rao LV et al 2000 avaliaram os efeitos das condições e duração de estocagem para TP e TTPa em 36 amostras de plasma e sangue total centrifugado. O grupo concluiu que tanto para plasma e sangue total podem ser aceitos para determinação do TP por 24 horas e para TTPa por 12 horas estocados em temperatura ambiente ou a 4°C. Os dados do estudo apesar de não avaliar diferenças nas condições de estocagem sinalizam também uma maior instabilidade do TTPa. Adcock D et al, 1998 demonstraram que a instabilidade do TTPa foi maior nos indivíduos em terapia com heparina e concluíram que amostras heparinizadas estocadas a temperatura ambiente e não centrifugadas são estáveis para o TTPa por 8 horas exceto terapia com heparina não fracionada. E em relação ao TP os resultantes são concordantes com os demais trabalhos acima citados onde a estabilidade foi de 24 horas.

Neofotistas D et al 1998 realizaram um estudo com 80 indivíduos, sendo 20 normais, 30 em uso de marevan e 30 em uso de heparina. Os resultados mostraram uma estabilidade em ambos os parâmetros (TP e TTPA) nos diferentes indivíduos em amostras centrifugadas e mantidas hermeticamente fechadas a temperatura ambiente por um período de até 8 horas.

Os fatores lábeis são mais bem preservados em citrato do que em anticoagulante de oxalato. Uma vez exposto ao ar, o plasma citratado permanece estável por apenas 2h em temperatura ambiente (22-25°) e por 4h no refrigerador a 4°C (referência). Quando colhido em tubo a vácuo, se a tampa não for aberta, o plasma permanece estável por mais tempo (6h em temperatura ambiente num estudo e 14-16h a 4°C em outro estudo) (referência).. Os resultados podem ser afetados por um excesso de anticoagulante em relação à quantidade de plasma. A colheita de quantidade insuficiente de sangue no tubo significa menor quantidade de plasma disponível para a quantidade de anticoagulante presente, de modo que os resultados do teste podem ser falsamente prolongados. O mesmo problema pode ser observado no sangue com hematócrito elevado, uma vez que, neste caso, os eritrócitos em excesso estão substituindo parte do plasma(referência).

Quando se emprega citrato de sódio a 3,8% (o anticoagulante mais comumente utilizado) para a preparação do plasma, tanto o TP quanto o TTPa podem estar falsamente prolongados quando o hematócrito atinge 50%, podendo este aumento ser significativo com um valor de hematócrito maior que 60%. O TTPa é mais afetado que o TP. O efeito do hematócrito é sobretudo incômodo em neonatos, uma vez que o recém-nascido normalmente apresenta um valor de hematócrito relativamente elevado. Por outro lado, valores de 20% ou menos para o hematócrito podem produzir uma redução falsa no TP e TTPa. Quando se utiliza citrato de sódio a 3,2%, o efeito do hematócrito é consideravelmente menor(referência)..

## 6. CONCLUSÕES

- O TP foi estável por 24 horas nas condições de estocagem.
- O TTPa apresentou uma instabilidade dentro das 24 horas;
- O TAP em pacientes patológicos apresentou grande diferença ao compararmos com pacientes normais;
- Nos pacientes normais houve uma constante de variação entre os diferentes tempos estudados.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOWIE, E. J. W., and OWEN, C. A., Jr. Hemostatic failure in clinical medicine. *Semin. Hematol.*, 14: 341, 1977.
- COLMAN, R. W.: Factor V. *Prog. Hemostasis Thromb.*, 3: 109, 1976.
- GANROT, P. O., and NILÉHN, J. E. Plasma prothrombin during treatment with Dicumarol II. Demonstration of an abnormal prothrombin fraction. *Scand. J. Clin. Invest.*, 22: 23, 1968.
- HEMKER, H. C., VELTKAMP, J. J., and LOELIGER, E. A. Kinetic aspects of the interaction of blood clotting enzymes. III. Demonstration of inhibitor of prothrombin conversion in vitamin K deficiency. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 19: 346, 1968.
- HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19<sup>a</sup> ed. São Paulo: Editora Manole. 1999.
- HIRSH, J., BISHOP, J., JOHNSON, M., and WALKER, C. The Development of antiheparin activity in stored vacutainer tubes. *Blood*, 48: 1004, 1976.
- JACKSON, C. M. and SUTTIE, J. W. Recent developments in understanding the mechanism of vitamin K and vitamin K-antagonistic drug action in blood coagulation. *Prog. Hematol.*, 10: 333, 1977.
- JAFE, E.A., HOYER, L. W., and NACHMAN, R. L. Synthesis of antihemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, 52: 2757, 1973.
- LEVINE, W. G. Anticoagulant, antithrombotic and thrombolytic drugs. In GOODMAN, L.S., and GILMAN, A. (eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. New York: MacMillan Publishing Co., Inc., 1975.
- MACFARLANE, R. G. Na enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature*, 202: 498, 1964.

McDONAGH, J., and WAGNER, R. H. Site of synthesis of plasma and platelet factor XIII. Ann. N. Y. Acad. Sci., 202: 31, 1972.

MILLER, O., GONÇALVES, R.R., PORTO, J.A.F. et al. Laboratório para o clínico. 5<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1984.

O' REILLY, R. A.: The Pharmacodynamics of the oral anticoagulant drugs. Prog. Hemostasis Thromb., 2: 175, 1974/1976.

RAPAPORT, S. I. Defibrillation syndromes. In WILLIAMS, W. J., BEUTLER, E., ERSLEV, A . J., and RUNDLES, R. W. (eds): Hematology, 2<sup>a</sup> ed. New York: McGraw-Hill Book Co., 1977.

RICHARD RAVEL, M. D. Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais. 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1997.

ROBERTS, H. R., and CEDERBAUM , A. I. The liver and blood coagulation: Physiology and pathology. Gastroenterology, 63: 297, 1972.

RODRIGUEZ-ERDMANN, F. Bleeding due to increased intravascular blood coagulation. N. Engl. J. Med., 273: 1370, 1965.

SHAPIRO, S. S., and HULTIN, M. Acquired inhibitors to the blood coagulation factors. Semin. Thromb. Hemostas., 1: 336, 1977.

SUTTIE, J. W. Oral anticoagulant therapy: The biosynthetic basis. Semin. Hematol., 14: 365, 1977a.

SUTTIE, J.W. Mechanisms of action of vitamin K: Demonstration of a liver precursor of prothrombin. Science, 179: 192, 1973.

WINTROBE, M. M., LEE, R. G., BOGGS, D. R., BITHELL, T. C., ATHENS, J. W., and FOERSTER, J. Clinical Hematology. Philadelphia, Lea and Febiger, 1974.

ZIMMERMAN, T. S., RATNOFF, O. D., and LITTEL, A. S. Detection of carriers of classic hemophilia using a immunologic assay for antihemophilic factor (factor VIII). J. Clin. Invest., 50: 255, 1971.