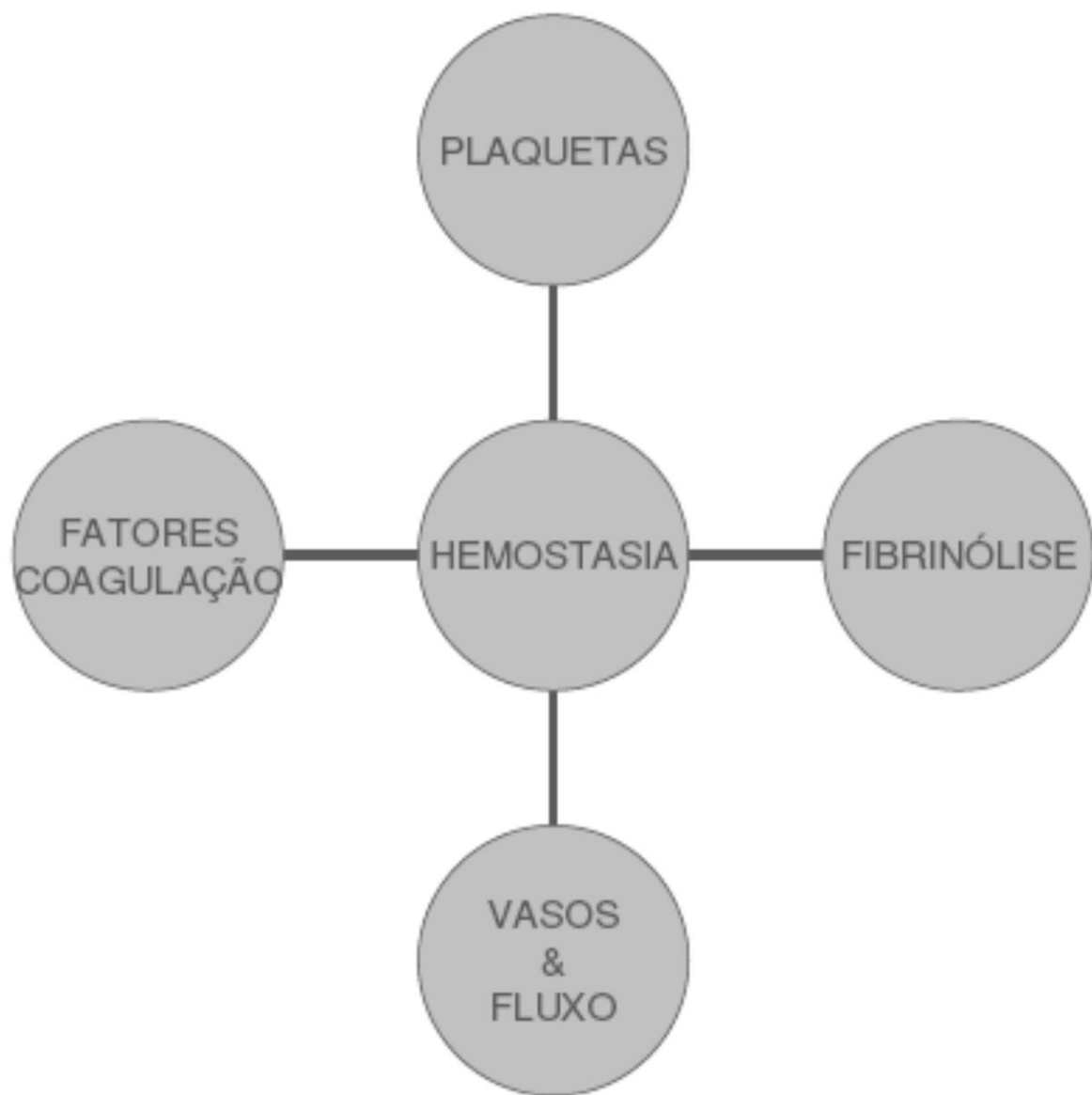
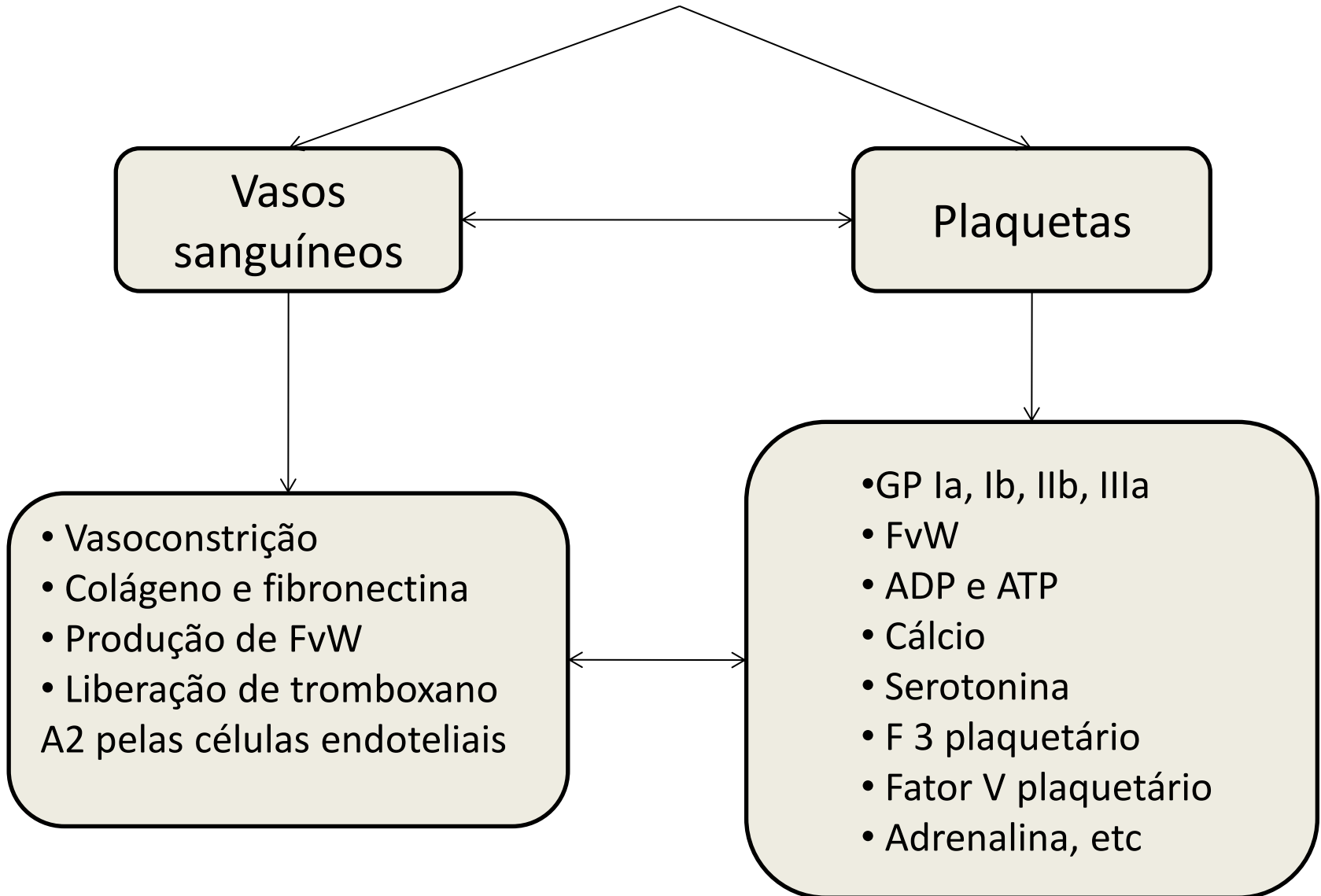


HEMOSTASIA SECUNDÁRIA

Profa Alessandra Barone
Prof. Archangelo Fernandes
www.profbio.com.br



Hemostasia primária



Hemostasia secundária

- Envolvimento da cascata de coagulação, sistema fibrinolítico e antifibrinolítico
- Reações em cascata com ativação de diversas proteínas plasmáticas (fatores de coagulação) que terminam com a formação de uma rede de fibrina.

Fatores de coagulação

- Produzidos no fígado.
 - Exceto fator III / FT
- Serino proteases que agem clivando outras proteínas
 - Exceção dos fatores V e VIII que são glicoproteínas e do fator XIII que é uma transglutaminase.

Fatores de coagulação

- Encontradas de forma inativa na corrente sanguínea
- Separados didaticamente em via intrínseca, extrínseca e via comum para a interpretação de testes laboratoriais.
- Interdependentes

Fatores de coagulação

- I. Fibrinogênio
- II. **Protrombina**
- III. Tromboplastina tecidual / FT
- IV. Cálcio
- V. Próacelerina
- VII. **Próconvertina**
- VIII. Fator anti-hemofílico A
- IX. **Fator anti-hemofílico B**
- X. **Stuart Power**
- XI. Fator anti-hemofílico C
- XII. Fator Hageman
- XIII. Fator estabilizador da fibrina



Vitamina K dependente

Fatores de coagulação

- Fatores de contato:
 - XII, XI, pré-caliceína e cininogênio
- Fatores de consumo (não presentes no soro):
 - I,V,VIII,XIII
- Fatores vitamina K dependentes :
 - II,VII,IX e X

Fatores de coagulação

- Vitamina K:
 - Na forma reduzida (KH_2) atua como co-fator da enzima carboxilase que adiciona um carboxil ao ácido glutâmico produzindo ácido gama carboxiglutâmico (Gla), aminoácido presente nos fatores de coagulação II, VII, IX e X e também as proteínas C e S.
 - Os resíduos do ácido gama-carboxiglutâmico resultantes convertem os precursores em fatores de coagulação ativos .

| Fator | Atividade | Meia-vida |
|----------------|------------------|------------------|
| Fibrinogênio | | 90 h |
| Protrombina | Serino protease | 60 h |
| Fator V | Co-fator | 12-36 h |
| Fator VII | Serino protease | 4-6 h |
| Fator VIII | Co-fator | 12 h |
| Fator IX | Serino protease | 20 h |
| Fator X | Serino protease | 24 h |
| Fator XI | Serino protease | 40 h |
| Fator XII | Serino protease | 48-52 h |
| Fator XIII | transglutaminase | 3 -5 dias |
| Ptn C | Serino protease | 8 – 12 h |
| Ptn S | Co-fator | |
| Pré calicreína | Serino protease | 48 – 52 h |

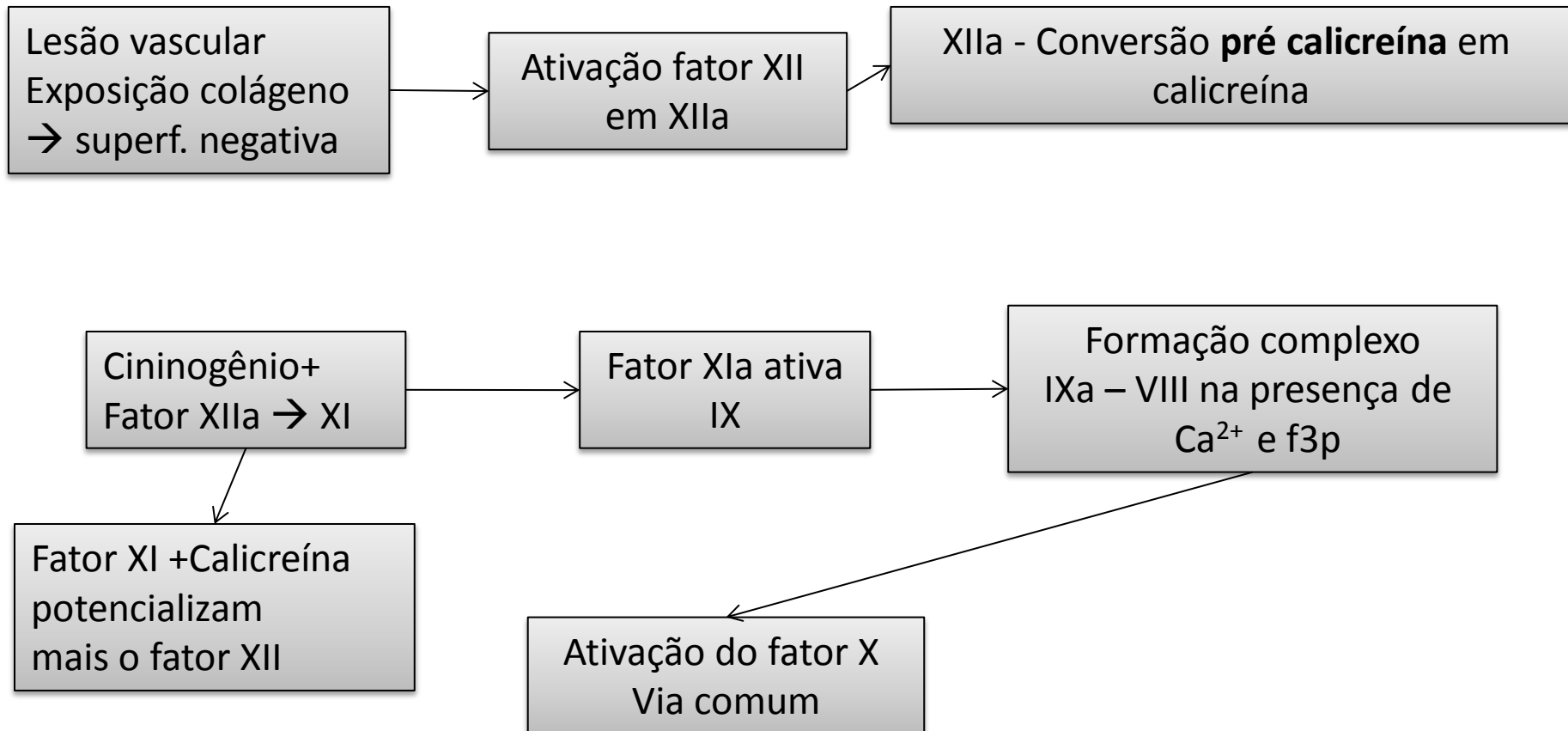
Hemostasia secundária

- Atualmente existem dois modelos propostos para o sistema de coagulação:
 - Modelo Clássico da coagulação
 - proposta em 1964, por Macfarlane e Davie e Ratnoff.
 - **Modelo baseado em superfícies celulares**
 - iniciação, amplificação, propagação e finalização

Modelo Clássico da Coagulação

- Via intrínseca
 - Ativada por colágeno, complexos Ag-Ac, endotoxinas, fosfolípidos.
 - É mais lenta porém mais importante.
- Via extrínseca
 - Ativada após lesão tecidual pela liberação do fator III - Tromboplastina tecidual.
 - Mais rápida

Via Intrínseca



Via Extrínseca

Lesão vascular – Liberação da
tromboplastina tecidual
(Fator III)

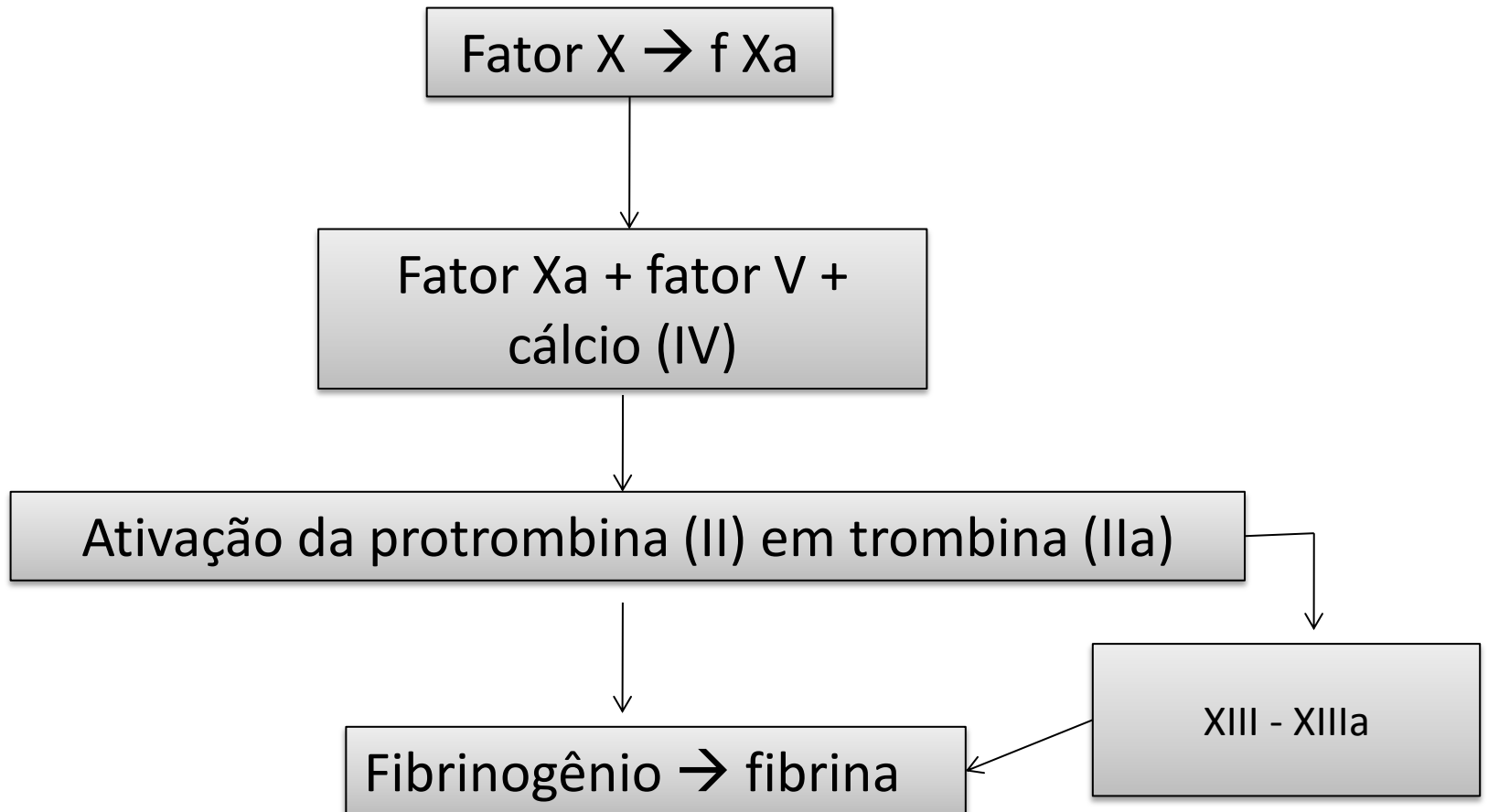
Expresso em céls
do músculo liso e
fibroblastos.

calicreína

III + VII na presença de Ca^{2+}

Ativação do fator X
Via comum

Via comum



Coagulação

- Fibrinogênio:
 - Formado por 3 cadeias polipeptídicas: α , β e γ ligadas por pontes de dissulfeto.
 - Trombina cliva as ligações peptídicas das cadeias com perda dos fragmentos α e β para produção de fibrina.

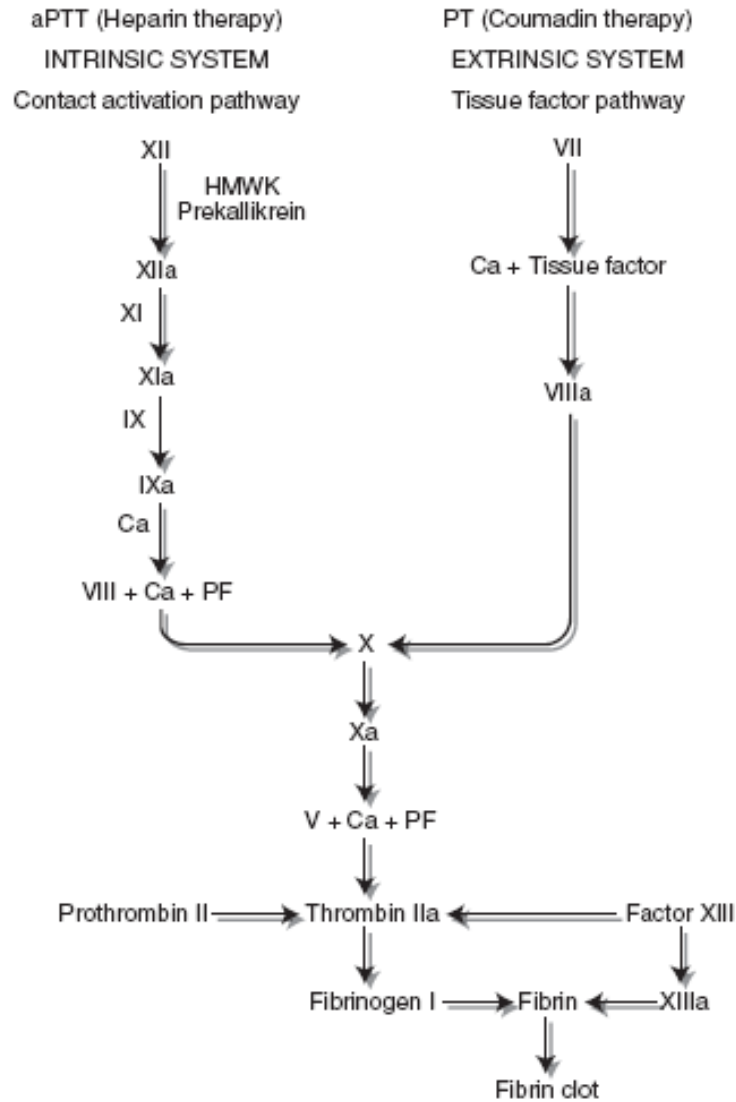


Figure 15.6 In vitro coagulation cascade.

Retração do coágulo

- Formação do coágulo definitivo.
- A retração do coágulo depende do número e função plaquetária, da proteína contrátil plaquetária (trombastenina), da estrutura e da concentração de fibrinogênio, de ATP e magnésio.

Sistema fibrinolítico

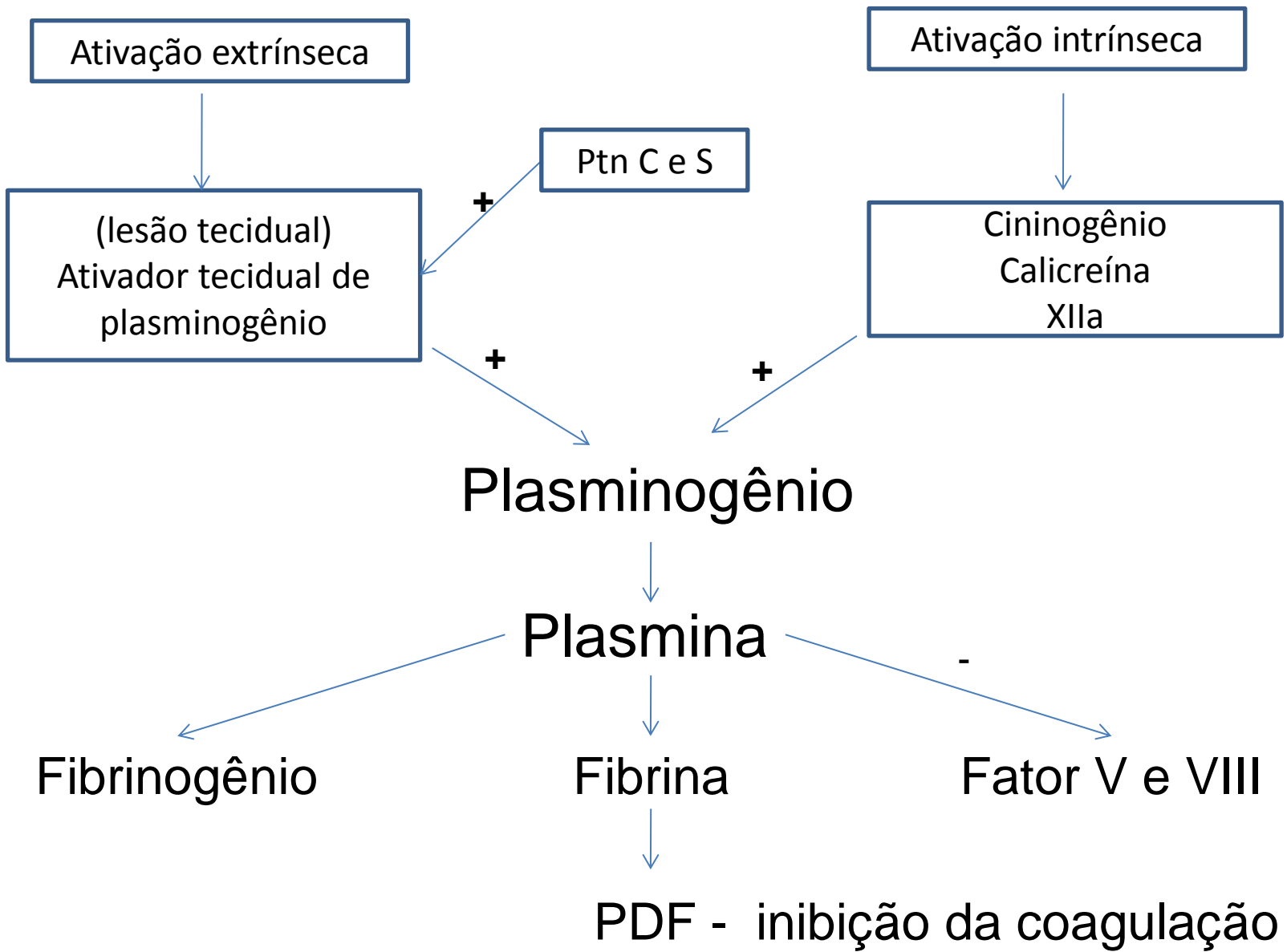
- Responsável pela degradação dos coágulos de fibrina produzidos a partir da conversão do fibrinogênio à fibrina
- Composto por enzimas ativadoras e reguladoras produzidas por diversos sistemas, sendo a principal enzima ativadora, a plasmina.

Sistema fibrinolítico

- A plasmina é formada a partir de um precursor: o plasminogênio produzido pelo fígado.
- A degradação da fibrina e fibrinogênio pela plasmina produzem produtos de degradação da fibrina (PDF) que atuam como inibidores da coagulação.
- Atua sobre o fator V e VIII degradando-os.

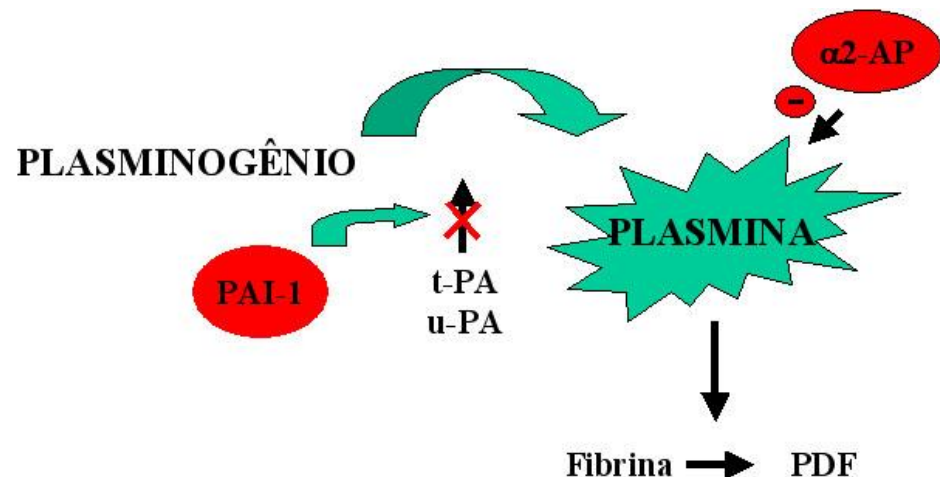
Sistema fibrinolítico

- Ativadores da fibrinólise
 - Ativadores do plasminogênio:
 - Fator XIIa
 - Calicreína
 - u-PA – ativador de plasminogênio tipo uroquinases
 - t-PA – ativador de plasminogênio tecidual
 - Proteína C e S: aumentam liberação de t-PA além de clivarem o fator V e VIII
 - Estafilo e estreptoquinases

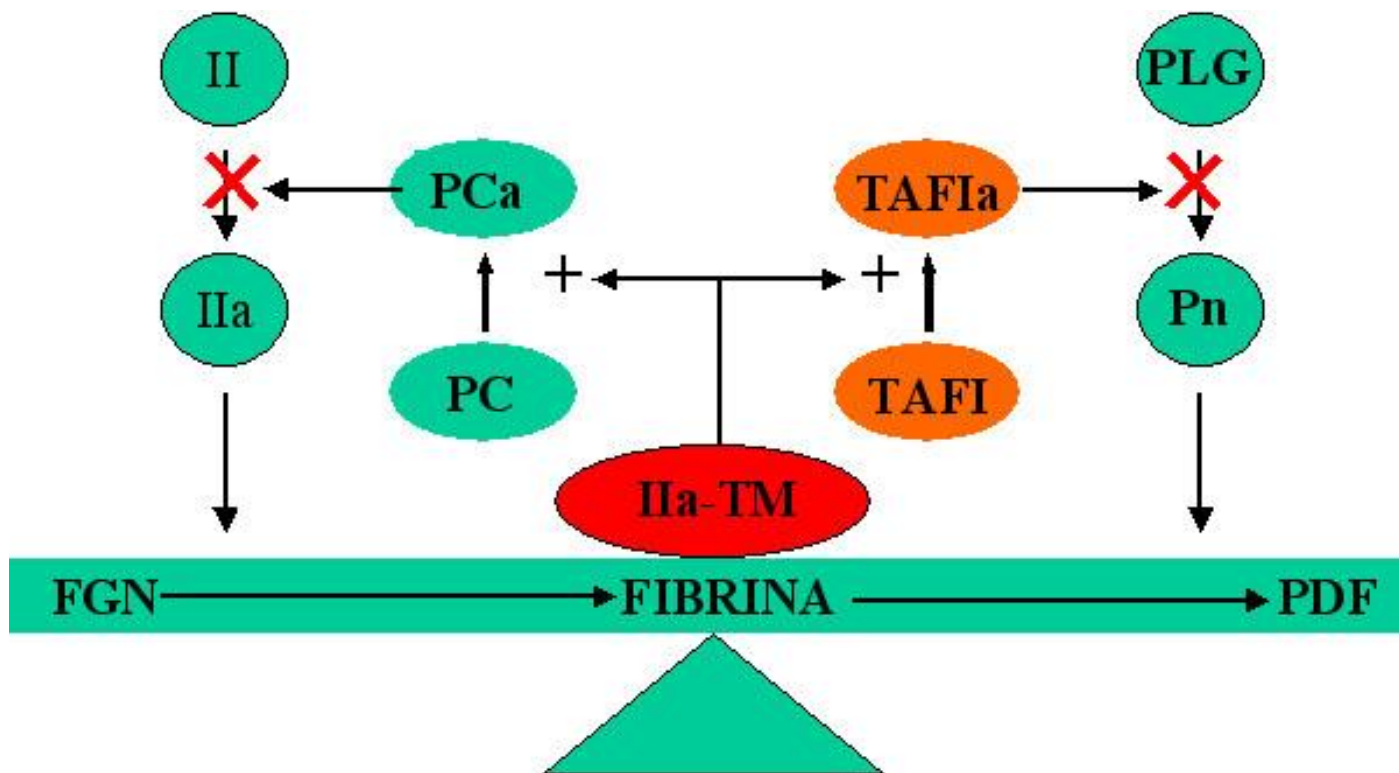


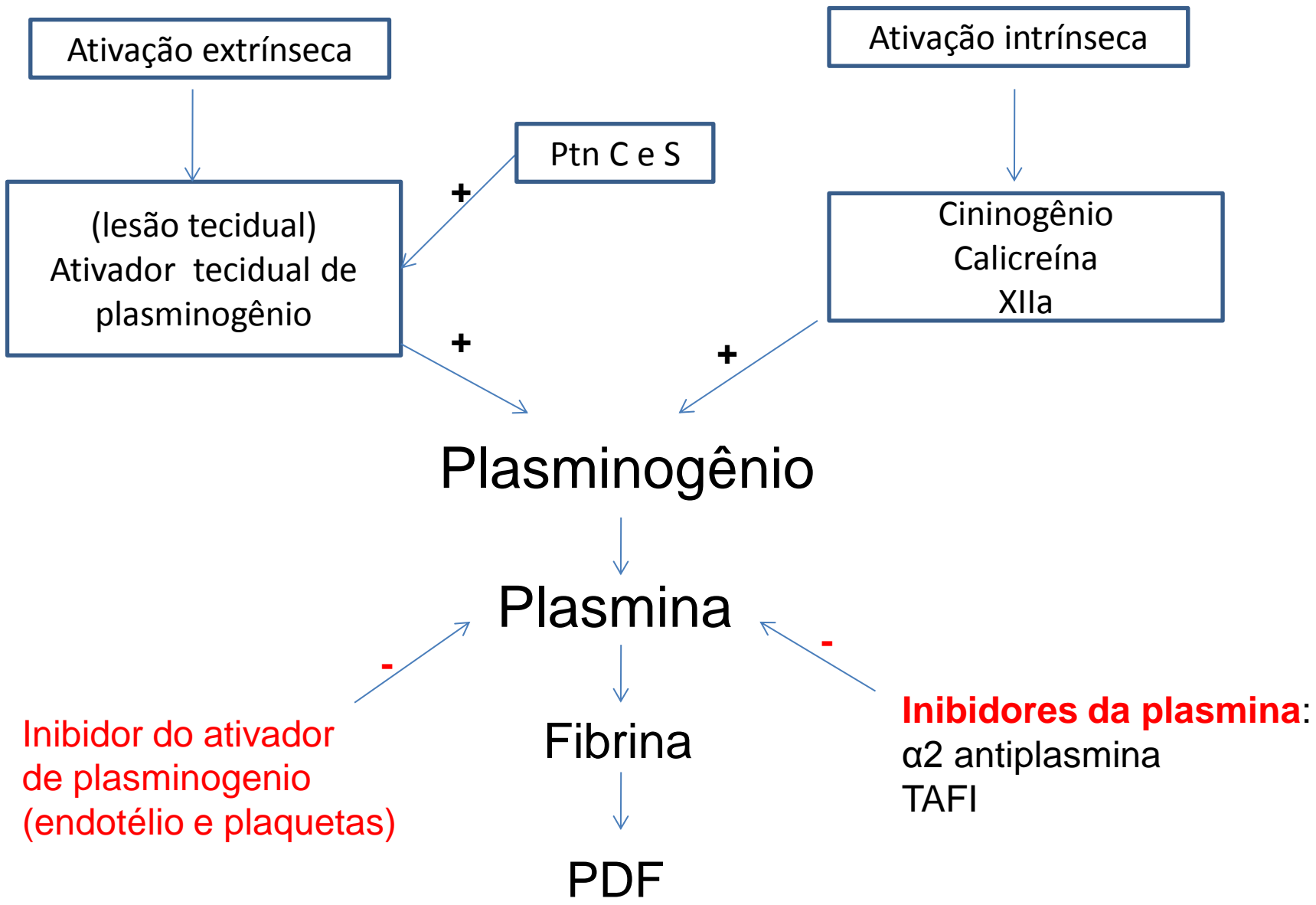
Sistema fibrinolítico

- Inibidores da fibrinólise
 - Alfa 2 antiplasmina – α 2-AP (F)
 - Inibidor do ativador de plasminogênio – PAI-1
 - TAFI – Inibidor fibrinólise ativado por trombina



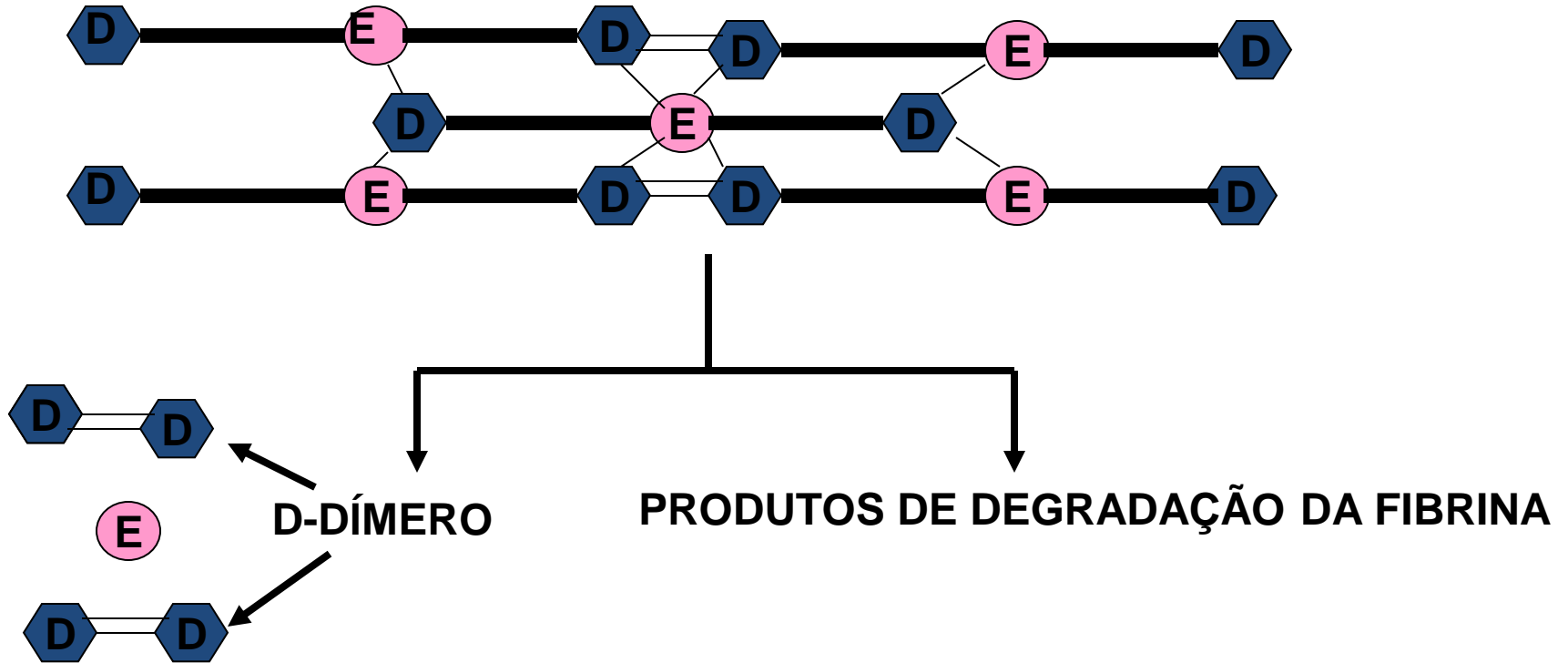
Sistema fibrinolítico





Fibrinólise

POLÍMERO DE FIBRINA



Anticoagulação

- Antitrombina
 - Glicoproteína produzida pelo hepatócito
 - Inibição da trombina e do fator XII, XI, IX, VIII além do fator X ativado
 - Forma complexo com a heparina que aumenta sua ação anticoagulante
 - Acelera a dissociação do complexo FVIIa/FT e impede sua reassociação

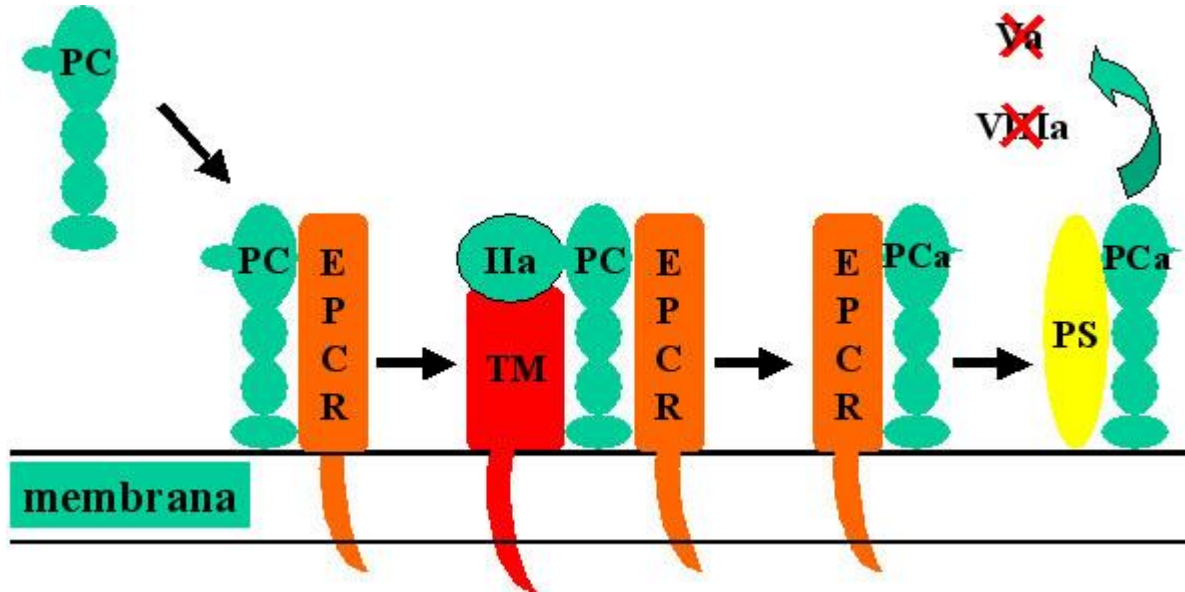
Anticoagulação

- TFPI – inibidor da via do fator tecidual
 - proteína secretada pelo endotélio, que forma um complexo quaternário FT/FVIIa/FXa/TFPI inativando os fatores ativados e, portanto, limitando a coagulação

Anticoagulação

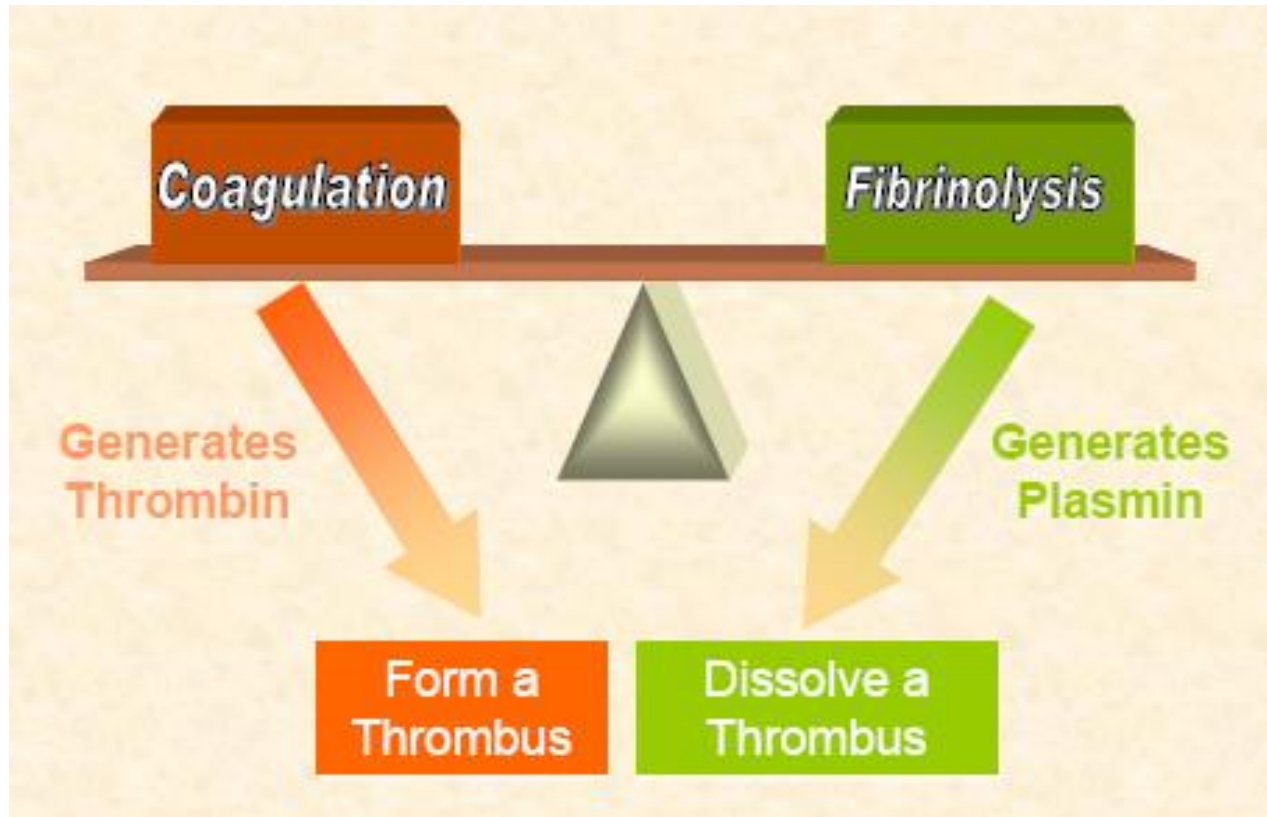
- Ptn C e seu co-fator ptn S
 - Glicoproteína plasmática dependente de vitamina K, que quando ativada, promove a proteólise dos cofatores Va e VIIIa

Anticoagulação

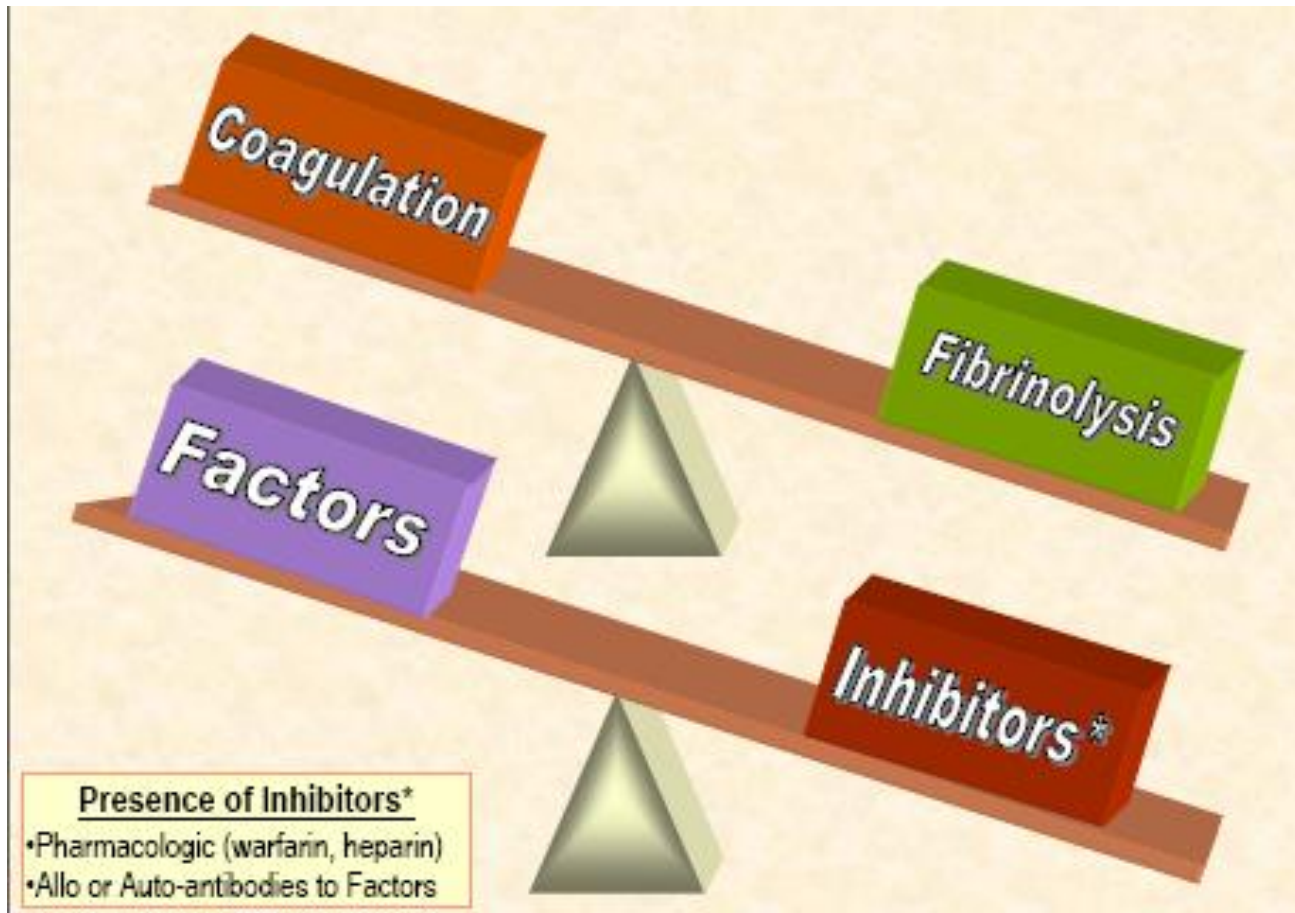


Sistema da proteína C ativada. A ligação da trombina (IIa) ao receptor endotelial trombomodulina (TM) modifica as propriedades da trombina, transformando-a em um potente anticoagulante, por ativar a PC, que, juntamente com seu cofator (PS), inativa os fatores VIIIa e Va, suprimindo a gênese de trombina. EPCR: “endothelial PC receptor” (receptor endotelial da PC).

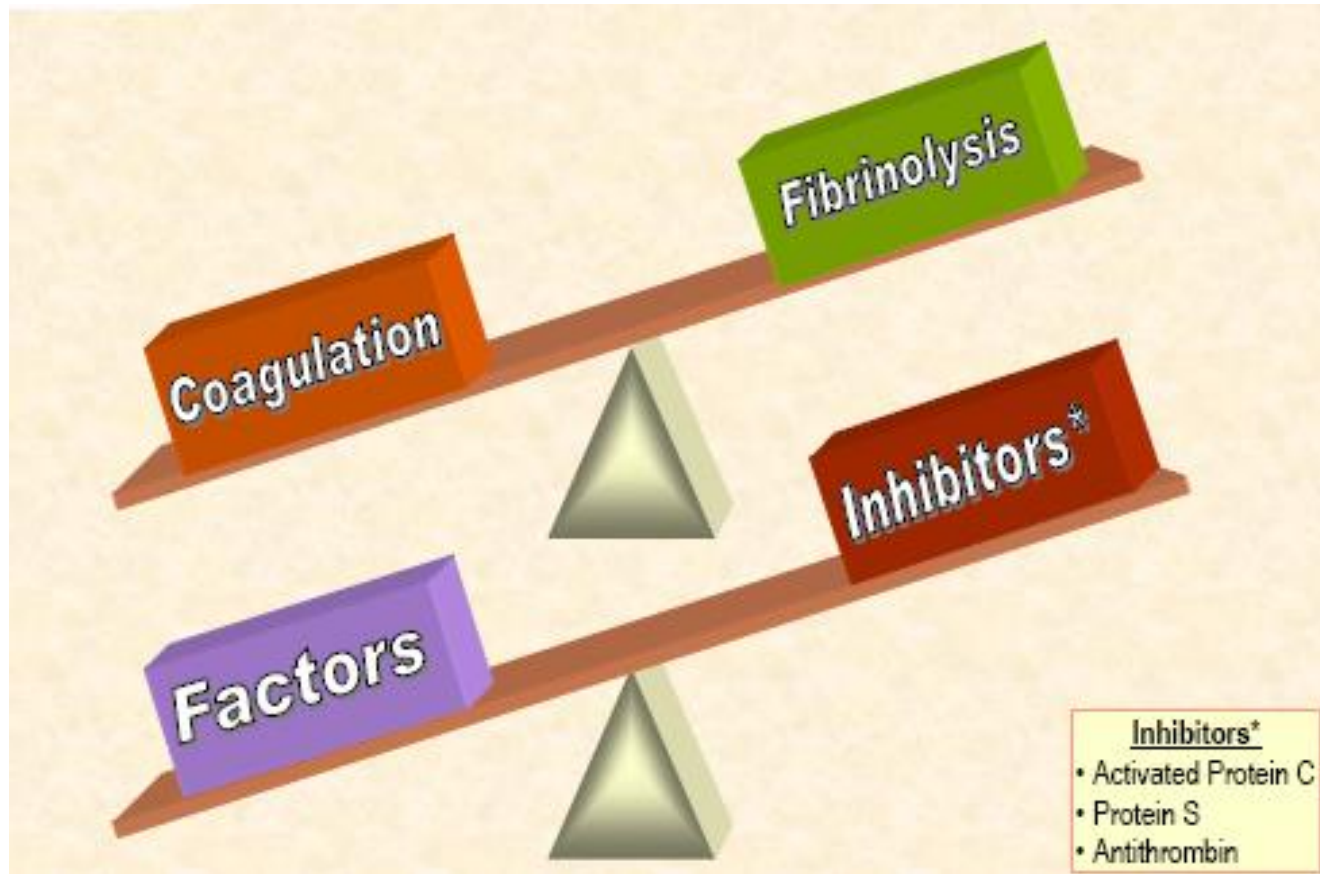
Homeostase



Trombose



Hemorrhagia



Avaliação Laboratorial

TP: tempo de protrombina

TTPa: tempo de tromboplastina parcial ativada

TT: tempo de trombina

Dosagem de Fibrinogênio

TS: tempo de sangramento

TC: tempo de coagulação

Coleta de sangue

- Anotar medicamentos em uso
- Coletar o sangue em tubo contendo anticoagulante citrato de sódio 3,8%
- Preencher todo o volume do tubo
- Homogeneizar por inversão
- Centrifugar a amostra
- Analisar imediatamente ou separar a parte líquida (plasma) em outro tubo e congelar



Tempo de sangramento

Avaliação do mecanismo vaso-plaquetário

- Realizar pequena punção no lobo da orelha
- Secar a primeira gota de sangue
- Começar a marcar o tempo
- Esperar o término do sangramento
- Terminar de marcar o tempo
- **Valor de ref: 1 a 3 minutos**

Tempo de coagulação

- Tempo necessário para formação de coágulo firme à 37°C quando em contato com a superfície do vidro.
- Avalia mecanismo intrínscico
- Utilizada para monitoramento de terapia com heparina
 - Coletar 5 mL sangue venoso em tubo/seringa (plástico) sem anticoagulante
 - Passar cerca de 1ml em tubos de hemólise
 - Começar a marcar o tempo
 - Incubar em 37 graus e aguardar o início da coagulação
 - Examinar a cada 30 segundos
 - Terminar de marcar o tempo quando os tubos puderem ser totalmente invertidos
 - **Valor de ref: 5 a 10 minutos**

Tempo de protrombina

(via extrínseca da coagulação)

- Incubar:
- 0,2 mL de tromboplastina tecidual + plasma (37 graus)+ Cálcio
- Começar a marcar o tempo
- Verificar a formação de fibrina
- Terminar de marcar o tempo.
- **Valor de ref: 11,0 a 14,6 segundos**

Tempo de protrombina

- Utilização de diferentes tipos de fator tissular na obtenção do TP
- Padronização pela OMS: Os fabricantes de reagentes foram orientados a comparar as tromboplastinas produzidas com a tromboplastina de referência mundial da OMS e calcular o Índice de Sensibilidade Internacional (ISI) **para cada lote de reagente** produzido.
- O valor do ISI é usado para calcular o RNI/INR (Internacional Normalized Ratio), que nada mais é que o TP "corrigido ou normatizado".

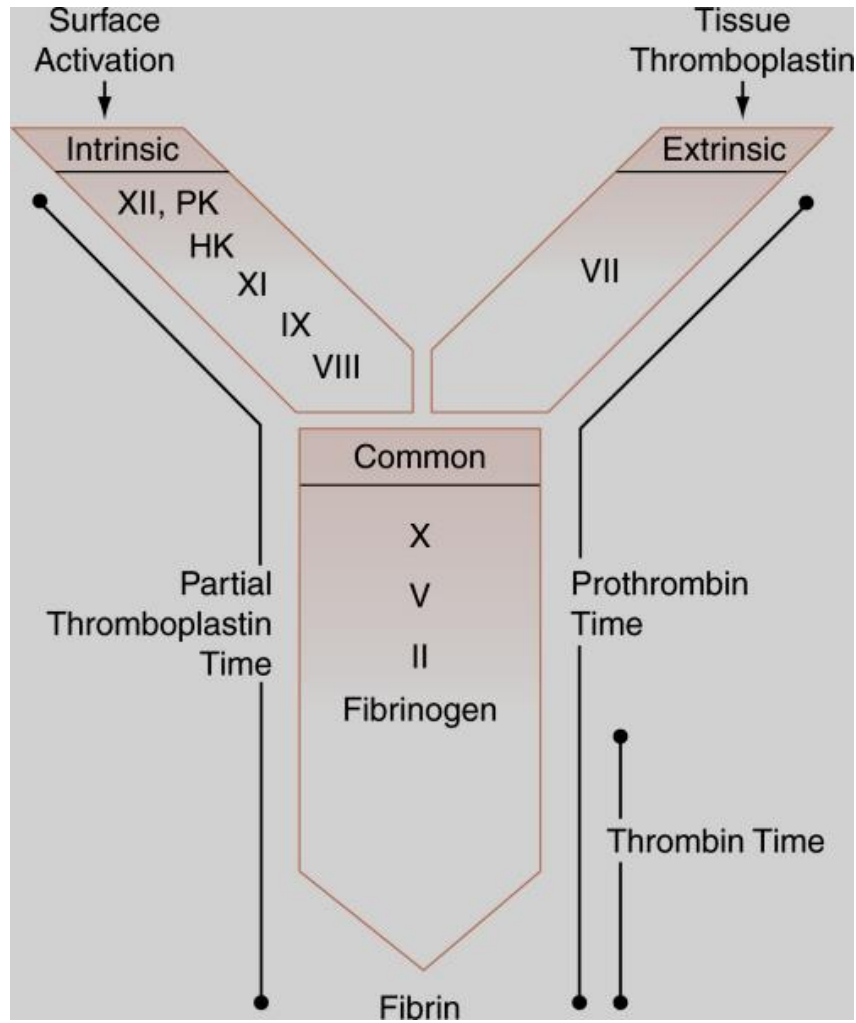
Atividade da protrombina %

- Para o cálculo do INR cada fabricante do fator tissular fornece o ISI. Normalmente o ISI fica entre 1,0 e 1,4.
- $RNI/INR = (TP_{teste} / TP_{pool\ normal.})^{ISI}$
- **O USO DE ANTICOAGULANTES ORAIS É AVALIADO SOMENTE PELO RNI**

$$RNI/INR = \left(\frac{TP_{teste}}{TP_{poolnormal}} \right)^{ISI}$$

Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) - via intrínseca

- Avalia todos os fatores menos o VII
- Incubar:
- 0,1 mL de plasma e 0,1 mL de reagente
- Fosfolípides (substitui o fator 3 plaquetário) + Cálcio + Plasma (37 graus)
- Começar a marcar o tempo
- Verificar a formação de fibrina
- Terminar a marcação do tempo
- **Valor de ref: 25 a 36 segundos**

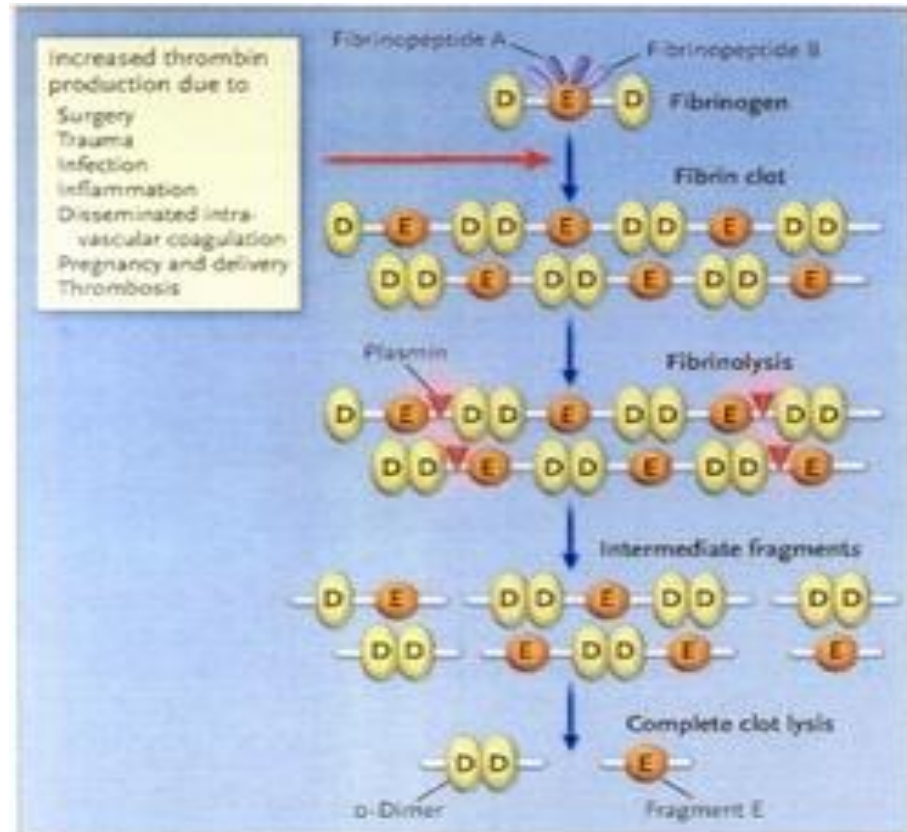


TT – Tempo de trombina

- Prova que avalia a via comum e o fibrinogênio plasmático
- Determina a presença de CIVD
- Formação do coágulo a partir da adição de trombina bovina (solução preparada e estável por 20' a 37 °C)
- Adicionar 0,2 mL de trombina a 0,2 mL de plasma citratado
- Começar a marcar o tempo
- Verificar a formação de fibrina
- Terminar a marcação do tempo
- **Valor de ref:** 12 a 18 segundos

Dímeros-D

São os produtos da degradação da fibrina pela plasmina.



Plasmin Degradation of a Fibrin Clot.

Fibrinogen is shown as a trinodular structure consisting of two D domains separated by a central E domain. Thrombin cleavage of fibrinopeptide A and fibrinopeptide B from fibrinogen results in the end-to-end association of D domains and the half-staggered lateral assembly of protofibrils, respectively, into fibrin clot. During fibrinolysis of fibrin, plasmin cleaves factor XIIIa-cross-linked fibrin into an array of intermediate forms. The D-dimer and E fragments are the result of terminal fibrin degradation.

Dímeros D – produtos de degradação da fibrina

- Utilizado para a avaliação de tromboembolismo venoso agudo e tromboembolismo pulmonar
- Produto de degradação da fibrina pela plasmina
- A fibrinólise endógena leva a formação do DD, que é detectado uma hora após formação do trombo e permanece elevado em média 7 dias

DD

- Dosagem realizada através de imunoensaios
 - Aglutinação em látex
 - Elisa

Dosagem de fibrinogênio

- Método de Clauss
 - Avalia a taxa de conversão de fibrinogênio em fibrina na presença de excesso de trombina
 - VR: 200 a 400 mg/dL

QUICK TIMER

A congelacao sem
perda de tempo.



 **DRAKE**

Referência bibliográfica

- AZEVEDO, Maria Regina A. **Hematologia Básica: fisiopatologia e estudo laboratorial**. 4 ed. São Paulo: Editora Luana. 2008. 420 p
- LEE, Richard G., BITHELL Thomas C., FOERSTER, John. **Wintrobe Hematologia Clínica**. São Paulo: Manole. 1998. 2v.
- LORENZI, Therezinha Ferreira. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 3 ed. . Rio de Janeiro: MEDSI, 2003. 655 p

Referência bibliográfica

- FERREIRA, Claudia et.al. **O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. vol.32 no.5 São Paulo 2010. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000500016
- KLACK, Karin ; CARVALHO, Jozélio F. **Vitamina K: metabolismo, fontes e interação com o anticoagulante varfarina.** Rev. Bras. Reumatol. vol.46 no.6 São Paulo Nov./Dec. 2006. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042006000600007&script=sci_arttext.