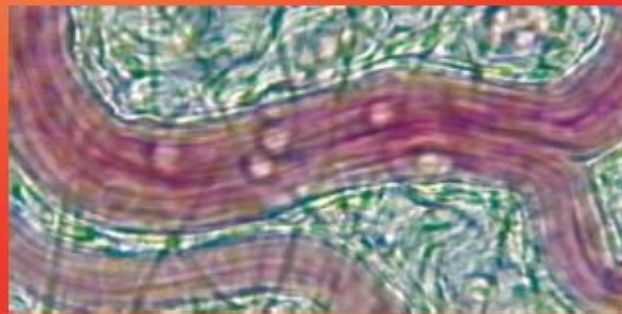


ISSN 2182-6005



publicação semestral
Janeiro-Junho
vol. 34 n.º 1 2019

BSPHM



www.hemorreologia.com

Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

BOLETIM

Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação
Bulletin of the Portuguese Society of Hemorheology and Microcirculation

Editor Principal/Editor-in-Chief: Carlota Saldanha Editor Associado/Associated Editor: Henrique Luz Rodrigues Conselho Editorial Internacional/
International Editorial Board: PORTUGAL: José Pereira Albino, J. M. Braz Nogueira, Victor Oliveira, Luis Mendes Pedro, Fausto J. Pinto, João Martins
e Silva | OUTROS PAÍSES: Jean-Frédéric Brun (França), Greet Schmid-Schoenbein (Estados Unidos), Nadia Antonova (Bulgária), Yukihide Isogai (Japão).
Coordenador Editorial: João Martins e Silva.

Vol. 34 n.º 1 Janeiro-Junho 2019

Sumário / Summary

NOTA DE ABERTURA / EDITORIAL

- Estase sanguínea na microcirculação 3
Carlota Saldanha

ARTIGO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

- Efeito da toma de citrulina, um precursor da arginina sobre as atividades de enzimas
eritrocitárias em ratos 5
Ángela Inácio, Laura Aguiar, Ángela Gil, Manuel Bicho

ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

- Tempo de tromboplastina parcial ativada prolongado – árvore de decisão laboratorial 10
Maria Manuel Campos, João Filipe Almeida, Maria José Marques
- **Prolonged activated partial thromboplastin time – laboratory decision tree**

NOTÍCIAS / NEWS AND INFORMATION

ATUALIZAÇÕES BIBLIOGRÁFICAS / ARCHIVES

- How Long can we Store Blood Samples: A Systematic Review and Meta-Analysis 19
Dong-wen Wu, Yu-meng Li, Fen Wang
- Exercise and Chronic Wound Healing 20
Bolton L

Política Editorial: O "Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação" fica a deter o direito de propriedade sobre todo o material publicado e difundido (artigos ou vídeos), após concordância expressa, por escrito, dos respetivos autores. O material eventualmente recusado não será devolvido.
Publication Policy of Material Presented: The "Boletim da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação" has the copyright ownership of all published and diffused material (articles or videos) conveyed, upon expressed and signed agreement of their Authors. The material eventually rejected will not be returned.

TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADA PROLONGADO – ÁRVORE DE DECISÃO LABORATORIAL

PROLONGED ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME – LABORATORY DECISION TREE

Maria Manuel Campos¹, João Filipe Almeida², Maria José Marques³

RESUMO

O tempo de tromboplastina parcial ativada é o segundo estudo da coagulação mais solicitado. Quando prolongado suscita dúvidas em termos de repercussões hemorrágicas, mas também trombóticas, que importa esclarecer. Esta pertinência é maior em contexto peri-operatório, diátese hemorrágica, terapêutica anticoagulante, ou como alteração laboratorial não associada a manifestações clínicas.

Assim, pretende-se neste artigo, evocar conceitos básicos da coagulação, fornecer algoritmos e soluções que agilizem as práticas laboratoriais e a abordagem clínica.

Sempre que o tempo de tromboplastina parcial ativada estiver prolongado, é necessário proceder a outras determinações, para investigar a deficiência de fatores da coagulação, ou seus inibidores, tendo presente que a heparina pode ser também uma das várias causas desse resultado.

Termos-chave: Tempo de tromboplastina parcial ativada, prolongamento, algoritmo, risco hemorrágico e trombótico

ABSTRACT

The activated partial thromboplastin time is the second most often requested coagulation assay. When prolonged, it provokes doubts about hemorrhagic, but also thrombotic effects, which need to be understood. This suitability is stressed in perioperative context, bleeding diathesis, anticoagulant therapy or in the absence of related clinical manifestations.

Therefore, the goal of this article is to discuss the basic concepts of blood coagulation, provide algorithms and solutions that help on the laboratory practices and clinical approach.

Ever this assay was prolonged, it is necessary to make other determinations to clarify factor deficiencies or their inhibitors, taking in mind that heparin can be also one of many reasons for this result.

Key words: Activated partial thromboplastin time, prolongation, algorithm, risk of bleeding and thrombosis

¹ Médica Assistente Hospitalar Graduada de Imuno-hemoterapia do Serviço de Imuno-hemoterapia do Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, EPE

² Médico Interno de Formação Específica de Imuno-hemoterapia do Serviço de Medicina Transfusional do Hospital Garcia de Orta, EPE

³ Técnica de Análises Clínicas e Saúde Pública de 2.ª Classe do Serviço de Imuno-hemoterapia do Centro Hospitalar Universitário de Lisboa Central, EPE
Email para contacto: maria.campos1@chlc.min-saude.pt

A HEMOSTASE: PRISMA CLÍNICO-LABORATORIAL

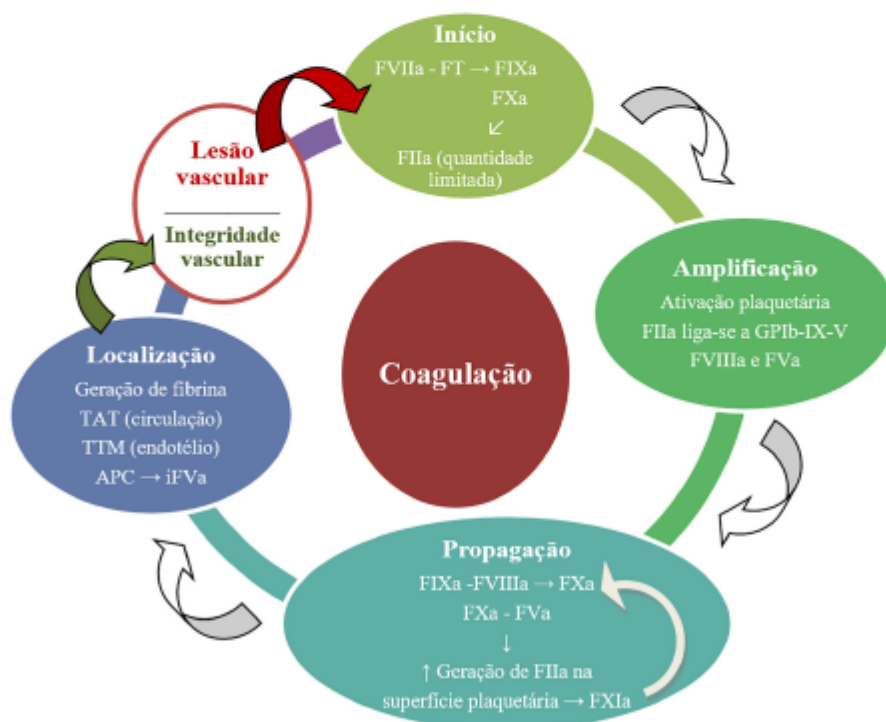
O tempo de tromboplastina parcial ativada (APTT) é um teste da coagulação solicitado na rotina, só superado em frequência pelo tempo de protrombina (TP)¹. Ambos são considerados testes básicos na avaliação da hemostase, sendo a razão normalizada internacional (*International Normalized Ratio* - INR), obtida através do TP, usada na monitorização da anticoagulação oral clássica (varfarina e acenocumol). Relativamente ao APTT é o teste que permite inferir a eficácia da terapêutica anticoagulante com heparina não fracionada (HNF) e orientar o ajuste da sua posologia^{1,2}.

São testes que, embora não monitorizem a administração dos anticoagulantes orais diretos, revelam

alterações (prolongamento variável) sob ação destes fármacos (dabigatran, rivaroxabano, apixabano e edoxabano). Assume-se que um alongamento do TP pode decorrer do efeito do rivaroxabano e, de modo insignificante, do edoxabano e do apixabano, enquanto valores prolongados do APTT e do tempo de trombina (TT) se enquadram no efeito do dabigatran. Aliás, um TT normal exclui ação deste último anti-coagulante^{2,3}.

Os laboratórios fornecem os resultados do APTT em segundos e razão, definindo o valor de referência e a variação da normalidade relativamente a essas unidades².

Quando ocorre um prolongamento do APTT é necessário compreender a causa do mesmo, já que as implicações clínicas podem ser diferentes. Muitas vezes, essa alteração está associada a tendência ou fenó-



FVIIa (fator VII ativado); FT (fator tecidual); FIXa (fator IX ativado); FXa (fator X ativado); FIIa (trombina); GPIIb-IX-V (complexo de glicoproteínas IIb-IX-V na membrana plaquetária); FVIIIa (fator VIII ativado); FVa (fator V ativado); FXIa (fator XI ativado); iFVa (FVa inativado); TAT (complexo trombina-antitrombina III); TTM (complexo trombina-trombomodulina); APC (proteína C ativada)

Figura 1. Representação esquemática da coagulação (modelo das superfícies celulares)²

menos hemorrágicos, mas pode também estar relacionada com predisposição trombótica ou até não ter repercussão, apesar de ser justificada por doseamentos anormais de alguns fatores do sistema de contacto^{2,4,5,6}.

Na Figura 1 está representado, de forma esquemática, o processo da coagulação, baseado no modelo das superfícies celulares².

APTT PROLONGADO: ESCLARECIMENTO POR ETAPAS

Sempre que seja detetado um prolongamento do APTT, é necessário confirmar o resultado, recorrendo a uma segunda amostra, se necessário. A informação clínica, conjugada com valores deste parâmetro obtidos anteriormente, bem como avaliação de outros dados analíticos, são fundamentais para proceder a um estudo correto^{2,7,8}. A visualização de uma curva coagulométrica normal, obtida por turbidimetria, é explanada na Figura 2, através de quatro fases (latência, início, formação de fibrina e estabilização)⁸.

No Quadro 1 constam diversas causas de prolongamento isolado do APTT (sem associação a prolongamento do TP, podendo ocorrer alteração de outros parâmetros como TT, atividade anti-Xa, doseamento de fatores)^{2,4-7,9,10,11}.

Quadro 1. Causas de prolongamento do APTT – Diagnóstico diferencial baseado no risco hemorrágico^{2,4-7,9,10,11}

Causas de prolongamento isolado do APTT	
Sem associação a diátese hemorrágica	Com associação a diátese hemorrágica
Anticoagulante lúpico	Deficiência de fator VIII
Deficiência de fator XII	Deficiência de fator IX
Deficiência de fator XI ($\geq 3 \text{ ui/dl}$)	Deficiência de fator XI ($< 3 \text{ ui/dl}$)
Deficiência de pk	Inibidores contra fatores VIII, IX e/ou XI
Deficiência de HMWK	HNF (sobredosagem e/ou trombocitopenia)
HNF	HBPM (sobredosagem e/ou trombocitopenia)
HBPM	IDT (sobredosagem)
IDT	DVW (expressão variável)
Artefacto (excesso de citrato)	SVWA (expressão variável)

PK (pré-calicreína – *prekallikrein*); HMWK (cininogénio de alto peso molecular – *high molecular weight kininogen*); HNF (heparina não fracionada); HBPM (heparina de baixo peso molecular); DrW (doença de von Willebrand); SVWA (síndrome de von Willebrand adquirida); IDT (inibidores diretos da trombina)

De modo a agilizar a investigação laboratorial, apresentam-se dois algoritmos que mostram a sequência analítica e as possíveis explicações para os resultados obtidos. A Figura 3 corresponde ao fluxograma descritivo dos estudos para esclarecimento de um

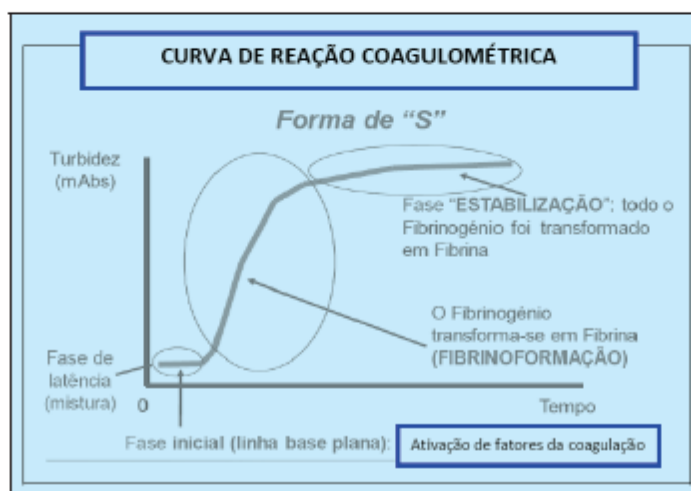


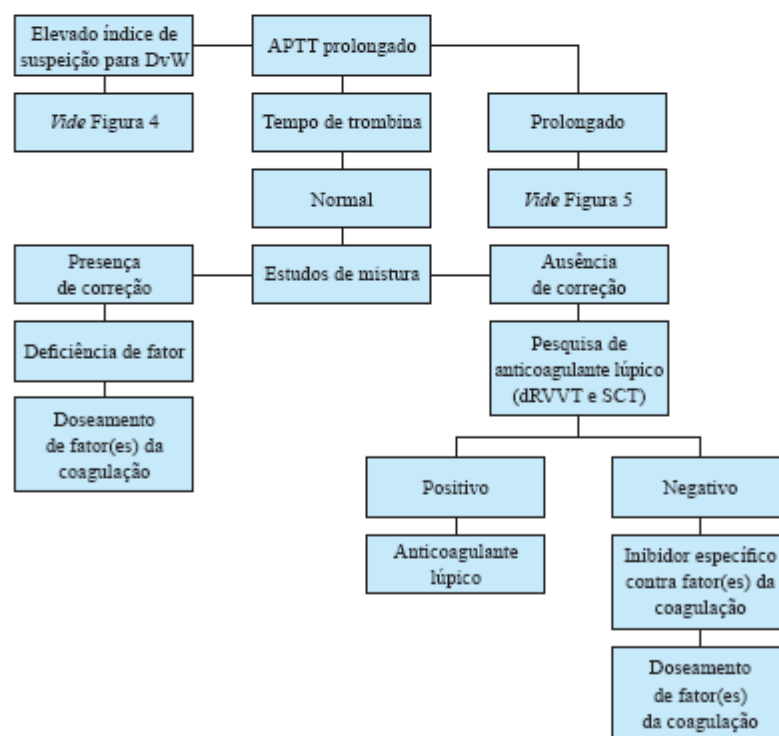
Figura 2. Aspeto de uma curva normal de APTT⁸

resultado prolongado de APTT³. Devido à relevância clínica e de acordo com a história pessoal e familiar, deriva-se para um segundo algoritmo (Figura 4), condensando os principais estudos para investigação de DvW e SvWA⁹⁻¹¹. Se o tempo de trombina (TT) também estiver prolongado, há necessidade de avançar com outros estudos, evidenciando-se, na Figura 5, um terceiro fluxograma^{2,12}.

Relativamente aos estudos de mistura, estes são efetuados com plasma do doente e plasma normal (em partes iguais) e contemplam a determinação imediata e após incubação, que geralmente deve ser de 2 horas a 37°C para os fatores da coagulação dependentes do tempo e da temperatura (absolutamente necessária para os fatores VIII e V). No caso do fator IX, basta incubar a mistura durante 10 minutos²⁷. Para outros fatores, é correto proceder-se a uma incubação de 60 minutos⁵.

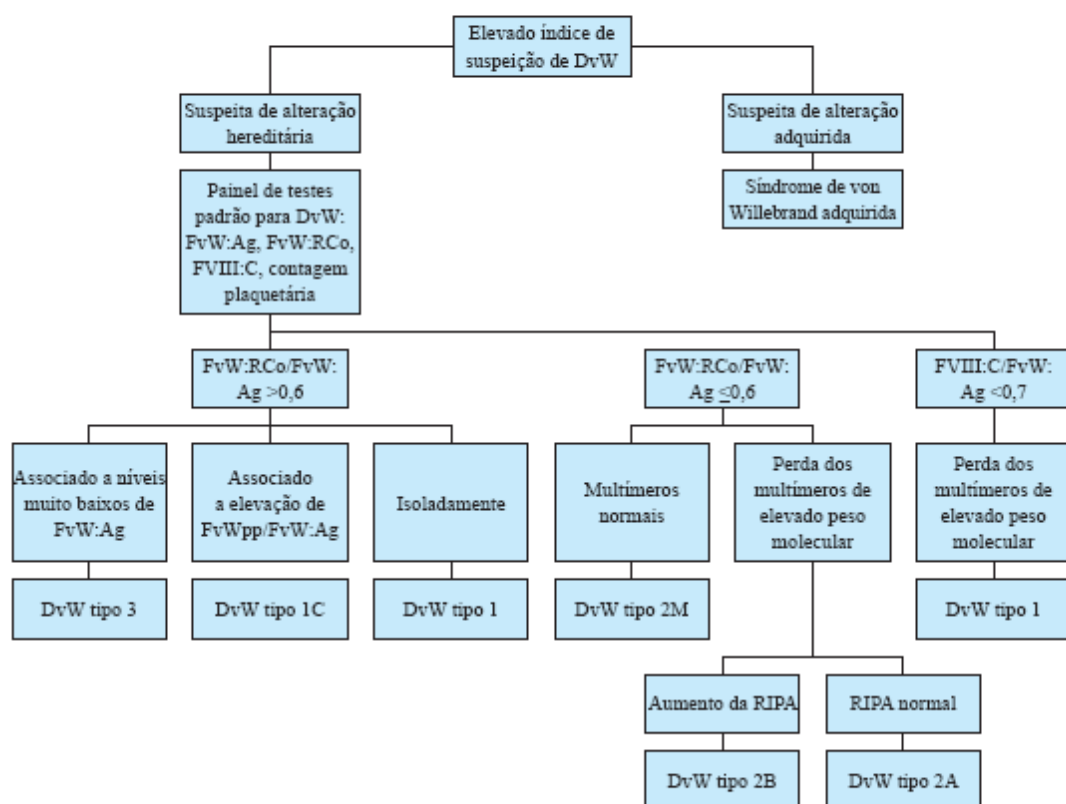
O cálculo do índice de Rosner, através do quociente entre a diferença do valor do APTT da mistura e do controlo normal sobre o valor da amostra do doente, é uma ferramenta adicional na interpretação destes estudos (ver Figura 6)⁶.

No caso da suspeita de deficiência de PK, a determinação inicial aos 3 minutos deve ser repetida aos 10 minutos (incubação a 37°C). Verifica-se um APTT prolongado aos 3 minutos, que é corrigido após 10 minutos, no caso desta deficiência, o que não acontece se existir uma deficiência de HMWK, que não pode ser despistada por este método laboratorial²⁷. Alguns autores preconizam tempos de incubação progressivamente maiores, que conduzem ao encurtamento correspondente do APTT, na deficiência de PK. Trata-se de um fenómeno *in vitro*, contornado pelo maior tempo de incubação antes da recalcificação e adição do ativador (sílica);



dRVVT (tempo de veneno de víbora Russell diluído); SCT (tempo de coagulação da sílica coloidal)

Figura 3. Algoritmo diagnóstico para esclarecimento de APTT prolongado⁸



FvW:Ag (fator de von Willebrand: antígeno); FvW:RCo (fator de von Willebrand: cofator da ristocetina); FvWpp (propeptído do fator de von Willebrand); FVIII:C (fator VIII coagulante); RIPA (agregação plaquetária induzida pela ristocetina em baixa concentração)

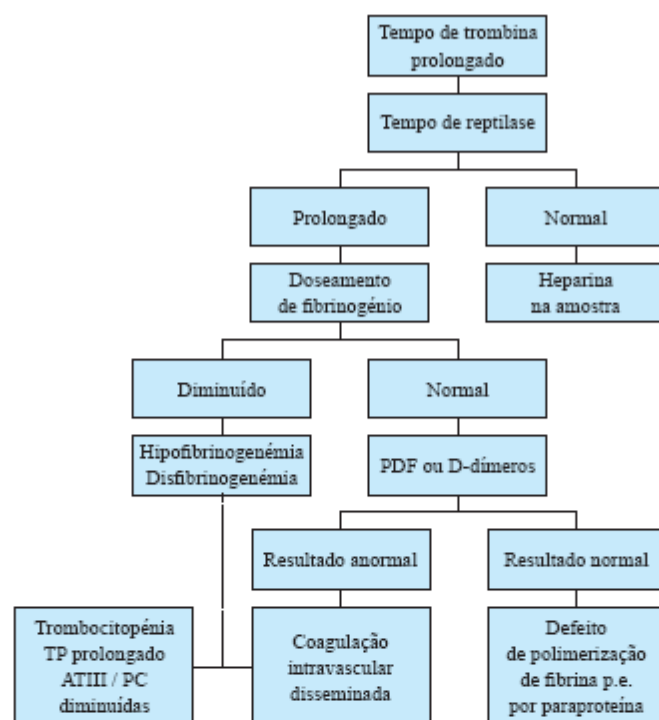
Figura 4. Algoritmo diagnóstico para esclarecimento de DvW e SvWA⁹⁻¹¹

corresponde a uma auto-ativação do fator XII na ausência de PK. A confirmação desta deficiência requer outros métodos e não existe expressão *in vivo* no sentido de hemorragia, verificando-se até propensão trombótica, pois os fatores de contacto, como o fator XII, intervêm na ativação do sistema fibrinolítico⁵.

No que concerne à pesquisa de anticoagulante lúpico, é importante considerar recomendações recentes da *International Society on Thrombosis and Haemostasis* (ISTH), compartilhadas por outras organizações como *British Committee for Standards in Haematology* (BCSH) e *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), que se aplicam a procedimentos de modificação do dRVVT, de modo a evi-

tar falsos positivos. Essencialmente, remetem para a diluição do plasma a testar com plasma controle lúpico negativo (em partes iguais) e subsequente execução do teste, quando resultado inicialmente positivo, num indivíduo com prolongamento do TP (INR > 1,5 ≤ 3,0). Resultados negativos são interpretados como tal e não carecem de adaptação do método. Se INR ≤ 1,5, o resultado é fiável e não exige modificação do teste; se INR > 3,0, a realização do estudo deve ser protelada^{13,14,15}.

Um comentário sucinto sobre os reagentes usados no APTT, considerando-se que existe diferença nos ativadores, bem como na composição e concentração em fosfolípidos. A sensibilidade e a especificidade dos reagentes, comercialmente disponíveis, contemplam



PDF (produtos de degradação de fibrina e do fibrinogênio); ATIII (antitrombina III); PC (proteína C)

Figura 5. Algoritmo diagnóstico para esclarecimento de TT prolongado^{4,12}

Índice de Rosner:
$\frac{\text{Mistura} - \text{controle normal}}{\text{Doente}} \times 100$
Interpretação:
> 15% (Inibidor)
< 12% (Deficiência)
≥ 12% e ≤ 15% (Duvidoso)
Valores de APTT do doente, controle normal e mistura expressos em segundos.

Figura 6. Índice de Rosner aplicado ao APTT⁶

propriedades dirigidas para a detecção de anticoagulante lúpico, o estudo da deficiência de fatores da coagulação da via intrínseca e a monitorização da heparina, entre outras situações^{2,6,14,15}.

- 1) Reagentes sensíveis aos fosfolípidos são preferidos no caso de despiste da presença de anticoagulante lúpico, sendo o ativador sílica preponderante na escolha.
- 2) Reagentes não sensíveis aos fosfolípidos, tendo o ácido elágico como ativador, revelam interesse na suspeita de deficiência de fatores da via intrínseca (VIII, IX, XI e XII).
- 3) No caso do despiste da deficiência de PK, usa-se a sílica como ativador.
- 4) O caulino é outro ativador utilizado na determinação do APTT.
- 5) Existem diferentes fontes de fosfolípidos (cefalina e sintéticos, por exemplo).
- 6) É necessária a adição de Cloreto de Cálcio para a execução do teste.
- 7) A sensibilidade deve ser mencionada pelo fabricante, no que respeita à monitorização da heparina não fracionada^{2,6,14,15}.

Se a proporção entre o anticoagulante (citrato de sódio a 3,2%) e o sangue total no tubo coletor não for respeitada (relação correta é respectivamente 1:9), existindo excesso do primeiro, podemos ter um APTT falsamente prolongado e sem significado clínico. É sempre uma boa atitude, repetir a colheita da amostra, em caso de dúvida^{2,8}.

HORIZONTE DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICO

Sendo um conceito prático afirmar que o TP permite avaliar a via extrínseca e o APTT a via intrínseca da coagulação, podemos também estabelecer o paralelo de que a fase de início da coagulação corresponde ao TP e a fase de propagação ao APTT no modelo das superfícies celulares. Esta correlação tem o intuito de orientar na seleção dos parâmetros para investigação das alterações dos testes básicos^{2,13,14}.

Na presente e breve revisão teórica, com propósitos pragmáticos, focaram-se aspetos comuns e outros mais raros, com maior ou menor gravidade, relacionados com risco hemorrágico/ trombótico, estudos que devem ser realizados e como facilitar essa decisão no fluxo de trabalho quotidiano^{2,5-7,15}.

Um aspeto marcante é que nem todas estas deficiências de fatores ou presença de inibidores se associam a hemorragia; é isto que acontece na deficiência de fator XII, PK, HMWK e anticoagulante lúpico^{4,5,15}. A presença deste último (inibidor) predispõe a eventos de natureza trombótica, estando associado com complicações obstétricas, neurológicas e dermatológicas, integrando o grupo dos anticorpos antifosfolipídicos^{6,15}.

A utilidade destes algoritmos como instrução de trabalho é valiosa e, com mais ou menos variantes, estes esquemas com a sequência dos testes e as hipóteses diagnósticas fazem parte dos manuais de procedimentos dos laboratórios de hemostase².

A evolução em termos dos mecanismos fisiopatológicos, a inovação farmacológica, o aperfeiçoamento de métodos, técnicas e reagentes e a globalização dos recursos, transformam de modo contínuo estes temas correntes, atualizando-os e preparando-nos para desafios permanentes.

REFERÊNCIAS

- Capoor MN, Stonemetz JL, Baird JC, Ahmed FS, Awan A, Birkenmaier C, et al. Prothrombin time and activated partial thromboplastin time testing: a comparative effectiveness study in a million-patient sample. *PLoS ONE* 2015;10(8):e0133317. doi: 10.1371/journal.pone.0133317.
- Kitchen S, Makris M. Laboratory tests of hemostasis. In: Key NS, Makris M, Lillicrap D (editors). *Practical hemostasis and thrombosis*. 3rd ed. Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell; 2017. p 12-26.
- Douxfile J, Agemo W, Samama CM, Lessire S, Ten Cate H, Verhamme P, et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost* 2018;16:209-19. doi: 10.1111/jth.13912.
- Schindhelm RK, Woudaghem MJ, Admiraal J, Nap G, Boskel E, Hani L. A patient with a prolonged activated thromboplastin time and a deep intracerebral haemorrhage. *Case Rep Neurol* 2012;4:131-6. doi: 10.1159/000342193.
- Patel N, Conley GW, McElroy LA, Rafai MA. Isolated prolonged activated partial thromboplastin time and contact factor deficiencies: case series and management review. *Anesthesiol Open J* 2016;1(1):19-23. <http://dx.doi.org/10.17140/AOJ-1-105>.
- Ratzinger F, Pasic T, Haslacher H, Perkmann T, Schmetscherer KG, Belik S, et al. Testing lupus anticoagulants in a real-life scenario – a retrospective cohort study. *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27(3):030705. <https://doi.org/10.11613/BM.2017.030705>.
- Münster M. SEED Coagulation – The activated partial thromboplastin time test (APTT), heparin and its mechanism of action. *Sysmax Educational Enhancement and Development / June 2012*.
- Girban M (Werfen). Teoria da coagulação (Fisiologia da hemostase). In: *Curso de Hemostase da APTAC*. Évora, 9 de fevereiro de 2019.
- Ng C, Motto DG, Di Paola J. Diagnostic approach to von Willebrand disease. *Blood* 2015;125(13):2029-37.
- Castaman G, Tosetto A, Redeghieri F. Von Willebrand disease. In: Key NS, Makris M, Lillicrap D (editors). *Practical hemostasis and thrombosis*. 3rd ed. Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell; 2017. p 94-112.
- Baldeo CM, Rivera CE, Tun HW, Vishnu P. Pharmacokinetics-based clinical management of acquired von Willebrand syndrome: a case report. *J Blood Med* 2018;9:9-13.
- Karthuri RS, Key NS. Disseminated intravascular coagulation. In: Key NS, Makris M, Lillicrap D (editors). *Practical hemostasis and thrombosis*. 3rd ed. Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell; 2017. p 172-82.
- Moore GW. Recent guidelines and recommendations for laboratory detection of lupus anticoagulants. *Semin Thromb Hemost* 2014;40:163-71. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1364185>.
- Moore GW. Current controversies in lupus anticoagulant detection. *Antibodies* 2016, 5(4), 22. <https://doi.org/10.3390/antib504022>.
- Kumano O, Ieko M, Naito S, Yoshida M, Takahashi N. APTT reagent with ellagic acid as activator shows adequate lupus anticoagulant sensitivity in comparison to silica-based reagent. *J Thromb Haemost* 2012;10:2338-43. doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04906.x.