Amanda Bruder Rassi

**Transfusão de plasma fresco congelado em pacientes com cirrose e
coagulopatia: efeito nos testes convencionais de coagulação e na geração
de trombina corrigida por trombomodulina**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de concentração: Distúrbios do Crescimento
Celular, Hemodinâmicos e da Hemostasia

Orientador: Prof. Dr. Alberto Queiroz Farias

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rassi, Amanda Bruder

Transfusão de plasma fresco congelado em
pacientes com cirrose e coagulopatia : efeito nos
testes convencionais de coagulação e na geração de
trombina corrigida por trombomodulina / Amanda
Bruder Rassi. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas.Área de
Concentração: Distúrbios do Crescimento Celular,
Hemodinâmicos e da Hemostasia.

Orientador: Alberto Queiroz Farias .

Descritores: 1.Cirrose 2.Hepatopatias
3.Coagulação sanguínea 4.Teste de geração de trombina
5.Transfusão 6.Plasma fresco congelado 7.Hemostasia

USP/FM/DBD-050/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família. Ao meu pai, Eduardo, por ter me mostrado como ser determinada, forte e trabalhadora. A minha mãe, Helena, por ter sempre sido minha fonte de aconchego, e nunca ter me deixado abandonar a fé, seja na vida, no amor ou em Deus. Ao meu irmão, Frederico, por sempre tentar me ensinar a ser uma pessoa melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador Alberto Queiroz Farias, que mais que orientador se tornou um grande amigo. Um exemplo de como orientar pós graduandos de forma presente e atuante, em um país onde a pesquisa ainda é realizada com muita dificuldade.

À mestre Tania Rubia Flores da Rocha, profissional e pessoa que admiro, portadora de didática brilhante. Esteve sempre disponível a me ensinar.

Aos Doutores Elbio D'Amico e Armando Tripodi, que tanto influenciaram o desenho deste estudo.

À toda equipe da hemostasia do Hospital das Clínicas, em especial a Valéria de Oliveira, Regina Tanzi e Dra. Paula Villaça.

Ao banco de sangue, que me informou gentilmente a cada nova prescrição de plasma fresco congelado na instituição.

À enfermeira Beatriz Migita, que foi mais que uma estagiária, e se empenhou bravamente na inclusão e coleta dos pacientes deste estudo.

Às minhas queridas Marta Araújo e Renata Porfírio, por me auxiliarem com a formatação.

Aos meus grandes amigos Livia Caroline Mariano e Bernardo Canedo, que me acompanharam nestes 5 anos de trajetória, me auxiliando a passar por momentos difíceis, e não me deixaram sucumbir às dificuldades.

Ao meu companheiro Henrique Vieira, que teve paciência, amor e compreensão na sempre turbulenta fase final de uma tese de doutorado.

EPÍGRAFE

“Quanto maior a ignorância, maior o dogmatismo”

William Osler

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, et al. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. 3º ed. São Paulo: divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas e títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Revisão da Literatura.....	3
1.1.2 Doença hepática avançada.....	3
1.1.3 Fisiologia da coagulação em indivíduos saudáveis.....	5
1.1.4 Testes laboratoriais da coagulação	8
1.1.5 Visão atual da coagulopatia na cirrose	11
1.1.6 Manejo da coagulopatia na cirrose.....	17
2. OBJETIVOS.....	19
3. MÉTODOS.....	21
3.1. Casuística	22
3.2 Desenho do Estudo	23
3.3 Financiamento	23
3.4 Preparo do plasma.....	23
3.5 Transfusão de plasma fresco congelado	24
3.6 Coleta, processamento das amostras do estudo.....	25
3.7 Análise das amostras	26
3.8 Reações transfusionais agudas	29
3.9 Aspectos éticos	31
3.10 Desfechos	31
3.11 Análise estatística	31
4. RESULTADOS	33
4.1 Inclusões	34
4.2 Indicação e dose de PFC.....	35
4.3 Resultados laboratoriais.....	36
4.4 Resultados clínicos	43
5. DISCUSSÃO.....	45
6. CONCLUSÕES.....	54
7. ANEXOS.....	56
ANEXO A	57
ANEXO B	58
ANEXO C	61
ANEXO D.....	65
8. REFERÊNCIAS	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACLF	insuficiência hepática crônica agudizada, do inglês <i>acute on chronic liver failure</i> .
AT	antitrombina
CAPM	cininogênio de alto peso molecular
CIVD	coagulação intravascular disseminada
CPRE	colangiopancreatografia retrógrada endoscópica
ETP	potencial de trombina endógeno
FLP	fosfolípide
FluCa	substrato fluorogênico diluído em tampão de cálcio
FT	fator tecidual
FVW	fator de von Willebrand
GPVH	gradiente de pressão venosa hepático
GT	geração de trombina
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IQ	Interquartil
ISI	índice internacional de sensibilidade
LT	tempo de latência, do inglês <i>lag time</i>
MELD	modelo para doença hepática terminal, do inglês <i>model for end-stage liver disease score</i>
NASH	esteatohepatite não alcoólica, do inglês <i>nonalcoholic steatohepatitis</i>
NIH	Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos da América, do inglês <i>National Institute of Health</i>
OMS	organização mundial de saúde
PAI	inibidor do ativador do plasmogênio
PC	proteína C
PFC	plasma fresco congelado
PK	pré-caliceína
PPP	plasma pobre em plaquetas
PS	proteína S
RNI	razão normalizada internacional
RNI _{liver}	razão normalizada internacional calibrado por plasmas de pacientes com cirrose
t-PA	ativador do plasminogênio tecidual
TACO	sobrecarga circulatória associada a transfusão, do inglês <i>transfusion acute circulation overload</i>
TAFI	inibidor da fibrinólise ativável pela trombina
TGT	teste de geração de trombina
TIPS	anastomose portossistêmica intra-hepática transjugular, do inglês <i>transjugular intrahepatic portasystemic shunt</i>
TM	trombomodulina
TP	tempo de protrombina
TRALI	lesão pulmonar aguda relacionada a transfusão, do inglês <i>transfusional related acute lung injury</i>
TTPa	tempo de tromboplastina parcial ativado
ttpico	tempo para o pico na geração de trombina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Esquema da cascata da coagulação com duas vias	05
Figura 2 –	Ativação da. proteína C.....	06
Figura 3 –	Visão moderna da hemostasia.....	07
Figura 4 –	Comparação entre os testes da coagulação.....	08
Figura 5 –	Curva de geração de trombina (trombograma) e seus parâmetros.....	11
Figura 6 –	Comparação da GT entre indivíduos saudáveis e as diferentes fases da cirrose.....	15
Figura 7 –	Reequilíbrio da hemostasia no paciente com cirrose.....	16
Figura 8 –	Processo de separação do plasma a partir de sangue total.....	23
Figura 9 –	Aparelho para geração de trombina utilizado no estudo: CAT.....	26
Figura 10 –	Técnica de preenchimento dos poços da placa de microtitulação para teste de geração de trombina.....	28
Figura 11 –	Diagrama de inclusão dos pacientes.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Alterações típicas da cirrose nas diferentes fases da hemostasia.....	13
Tabela 2 –	Parâmetros de controle de qualidade do plasma.....	24
Tabela 3 –	Parâmetros de geração de trombina em indivíduos normais.....	29
Tabela 4 –	Risco de sangramento por procedimento.....	30
Tabela 5 –	Classificação do sangramento.....	30
Tabela 6 –	Características basais dos pacientes.....	35
Tabela 7 –	Resultados dos testes convencionais da coagulação antes e após transfusão de plasma fresco congelado.....	36
Tabela 8 –	Comparação dos valores de geração de trombina entre pacientes com cirrose (pré-transfusão) e indivíduos saudáveis	38
Tabela 9 –	Resultados de ETP antes e após transfusão de PFC.....	39
Tabela 10 –	Resultados antes e após transfusão dos demais parâmetros de geração de trombina.....	40
Tabela 11 –	Análise de covariância da presença de choque em relação aos parâmetros de geração de trombina.....	41
Tabela 12 –	Análise de covariância da variável Child-Pugh em relação aos parâmetros de geração de trombina.....	41
Tabela 13 –	Análise de covariância da presença de infecção em relação aos parâmetros de geração de trombina.....	42
Tabela 14 –	Análise de covariância de etiologia em relação aos parâmetros de geração de trombina.....	42
Tabela 15 –	Características clínicas dos pacientes com sangramento.....	44
Tabela 16 –	Quantidades de plasma infundido em volume e dose necessárias para atingir determinados valores de RNI e incremento de fatores da coagulação.....	51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Efeito da transfusão de PFC no RNI, TP, e TTPa.....	37
Gráfico 2 –	Curvas de distribuição mostrando ETP com TM aumentada na cirrose em comparação a indivíduos saudáveis.....	38
Gráfico 3 –	Efeito da transfusão de PFC para o parâmetro ETP com TM, sem TM e ETPr.....	39
Gráfico 4 –	Efeito da transfusão de PFC no pico máximo de trombina com e sem TM.....	40
Gráfico 5 –	Trombogramas semelhantes em população de indivíduos saudáveis e pacientes com cirrose (casuística completa, sem e com choque).....	43

RESUMO

Rassi AB. *Transfusão de plasma fresco congelado em pacientes com cirrose e coagulopatia*: efeito nos testes convencionais de coagulação e na geração de trombina corrigida por trombomodulina [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: O efeito da transfusão de plasma fresco congelado (PFC) para corrigir coagulopatia na cirrose ainda não foi devidamente esclarecido. As diretrizes internacionais permanecem sem uma indicação clara neste cenário e pacientes com cirrose chegam a consumir 30% do estoque de plasma dos bancos de sangue. Nosso objetivo foi avaliar o efeito do PFC na geração de trombina (GT) corrigida por trombomodulina (TM) em pacientes com cirrose e testes convencionais de coagulação alterados. **Métodos:** neste estudo observacional foram incluídos pacientes adultos, consecutivos com diagnóstico de cirrose, RNI/TP $\geq 1,5$ e indicação de PFC por seu médico assistente com intuits profiláticos e/ou terapêuticos. Amostras de sangue foram coletadas antes e em até 6 horas após transfusão. O desfecho principal foi a melhora do parâmetro de GT, ETP adicionado de TM (ETP TM). Todas as amostras foram testadas para RNI/TP, TTPa e todos parâmetros de GT com e sem TM. **Resultados:** 53 pacientes receberam dose média de plasma de $11,26 \pm 1,3$ mL/kg. Após transfusão RNI, TP e TTPa diminuíram significativamente ($p < 0,00001$), correspondendo a melhora de 33,7%, 23, 5% e 16,6% respectivamente. Entretanto, foram atingidos valores $< 1,5$ para RNI e TP em apenas 8 (15%) e 21 (40%) dos pacientes. O PFC aumentou a ETP TM em apenas 8% (1008 ± 345 a 1090 ± 341 nMol / L*min; $p = 0,019$). Antes da transfusão, evidência de GT normal ou alta foi encontrada em 96% por ETP TM e em 98% dos pacientes pelo parâmetro ETPr. Apenas 2 (3,8%) pacientes apresentaram valores de ETP TM abaixo da faixa normal e a transfusão de PFC corrigiu a geração de trombina em um deles. Nenhum destes sangrou. O ETP TM diminuiu em uma média de 12,8% em 18 (34%) pacientes após a transfusão (1270 ± 256 a 1107 ± 278 nMol / L* min ; $p = < 0,0001$). O ETPr (com/sem TM) permaneceu praticamente inalterado (de $0,81 \pm 0,13$ para $0,80 \pm 0,12$, $p = 0,75$). **Conclusão:** Pacientes com cirrose e testes convencionais da coagulação alterados parecem ter GT preservada em seus estados basais. A transfusão de PFC aumenta a GT e melhora os testes convencionais de coagulação em um número limitado destes pacientes, e piorou a ETP TM em um terço dos casos.

Descritores: cirrose; hepatopatias; coagulação sanguínea; teste de geração de trombina; transfusão; plasma fresco congelado; hemostasia.

ABSTRACT

Rassi AB. *Fresh frozen plasma transfusion in patients with cirrhosis and coagulopathy: effect on conventional coagulation tests and thrombomodulin-corrected thrombin generation* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

Background and aims: the efficacy of fresh frozen plasma (FFP) transfusion in correcting coagulopathy in cirrhosis has not been fully clarified. International manuals remain without a clear indication in this scenario and patients with cirrhosis consume up to 30% of the blood bank stock of plasma. Our aim was to assess the effect of FFP transfusion on thrombomodulin(TM)-corrected thrombin generation (TG) in patients with cirrhosis and impaired conventional coagulation tests. **Methods:** consecutive adult patients with INR/PT ratio ≥ 1.5 and receiving standard FFP dose for bleeding treatment and/or before invasive procedures were enrolled in this observational study. Primary endpoint was the amelioration of the GT parameter ETP with TM (ETPTM) after FFP transfusion (TM was added to mimic *in vivo* conditions). PT/INR, aPTT and all TG parameters (with and without TM) were examined in patients with cirrhosis before and after FFP transfusion. **Results:** 53 patients received FFP at a mean dose of $11,26 \pm 1,3$ mL/kg. FFP enhanced ETP TM by only 8% (1008 ± 345 to 1090 ± 341 nMol/L*min; $p = 0.019$). Before transfusion, evidence of normal or high TG was found in 96% by ETP TM and 98% of patients by the ETP ratio parameter. Only 2 (3.8%) had ETP TM values below normal range and FFP transfusion corrected thrombin generation in one of them. None of them bled. ETP TM had a 12.8% mean decrease in 18 (34%) after FFP transfusion (1270 ± 256 to 1107 ± 278 nMol/L*min; $p < 0.0001$). ETP ratio (with/without TM) remained practically unchanged (from 0.81 ± 0.13 to 0.80 ± 0.12 , $p = 0.75$). FFP significantly ameliorated INR/PT values ($p < 0.0001$), but correction of INR and PT ratio for values < 1.5 was observed in only 8 (15%) and 21 (40%) of the patients. **Conclusions:** Patients with cirrhosis and coagulopathy seem to have normal results of GT at baseline. FFP transfusion enhances TG and ameliorates conventional coagulations tests in a limited number of those patients, and might worsen ETP TM in in a third of cases.

Descriptors: cirrhosis; liver diseases; blood coagulation; thrombin generation test; transfusion; fresh frozen plasma; hemostasis.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Prevaleceu na literatura dos últimos 50 anos o conceito de que a cirrose resulta em profunda alteração da hemostasia. De fato, pacientes com cirrose apresentam inúmeras causas para explicar os seus característicos distúrbios da coagulação, incluindo plaquetopenia e disfunção plaquetária, alterações quantitativas dos fatores de coagulação, deficiência de anticoagulantes naturais, disfibrinogenemia, hiperfibrinólise e coagulação vascular disseminada¹.

Durante a última década houve considerável avanço no entendimento da complexa hemostasia da cirrose^{2,3}, com a melhor caracterização dos mecanismos compensatórios que atuam *in vivo*.

Os testes de coagulação convencionais e rotineiros – tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa) – e a contagem plaquetária dão uma perspectiva parcial da hemostasia do paciente com cirrose. Frequentemente apresentam resultados alterados, sugerindo tendência hemorrágica e, até, um estado de “auto-anticoagulação”. Esta visão era reforçada pelos frequentes episódios de sangramento digestivo, comuns em pacientes com cirrose. Hoje acredita-se que os testes de triagem da coagulação não consigam traduzir as complexas alterações na hemostasia decorrentes do declínio da função hepática, e que alguns pacientes com cirrose apresentam até mesmo um aumento do risco trombótico, a despeito da prolongamento do TP e do TTPa⁴.

Com intuito de tentar corrigir a deficiência de fatores de coagulação demonstrável pelo TP/RNI, indica-se a realização de transfusão de plasma fresco congelado (PFC) com propósito profilático (antes de procedimentos invasivos) ou para tratamento de episódios de sangramentos, incluindo hemorragias digestivas⁵. Tal fato tem levado a uma política transfusional liberal, ilustrada por estatísticas americanas que mostram que pacientes com cirrose consomem 32,4% do estoque total de PFC de um hospital terciário, apesar de somarem apenas 7,7% do total de admissões hospitalares⁶.

Em que pese o seu uso liberal e rotineiro, a eficácia da transfusão de PFC tem sido debatida na literatura recente. Em 2012, Tripodi et al simularam *in vitro* a transfusão de PFC em pacientes com cirrose, sugerindo ausência de benefício. Em 2015 e 2016 foram publicados os primeiros estudos realizados *in vivo* com objetivo de avaliar benefício da transfusão de PFC em pacientes com cirrose. Estes estudos sugeriram ausência de benefício da transfusão^{7,8}.

Apesar das recentes descobertas, permanece sem comprovação por ensaios clínicos randomizados que a transfusão de PFC previna ou interrompa episódios de sangramento. Deste modo, diretrizes de sociedades internacionais ainda se baseiam predominantemente em opiniões de especialistas⁹⁻¹¹.

No presente estudo propomos avaliar o efeito da transfusão de PFC na geração da trombina em pacientes com cirrose. Formulamos a hipótese de que a transfusão de PFC em pacientes com cirrose, apesar de melhorar o TP e o TTPa, não melhoraria a geração de trombina, representando, portanto, riscos e custos adicionais para a maioria dos pacientes.

1.1 Revisão da Literatura

1.1.2 Doença hepática avançada

A cirrose é a via final comum do processo de lesão hepática, independente da sua etiologia. O insulto crônico ao parênquima hepático leva a um progressivo processo de fibrose difuso que, em associação à formação de nódulos regenerativos, altera a arquitetura lobular e produz as síndromes clínicas de hipertensão portal e insuficiência hepatocelular^{12,13}.

A etiologia da cirrose varia de acordo com a região geográfica, sendo o abuso de álcool e as hepatites crônicas virais as causas mais frequentes nos países ocidentais¹⁴. Com as mudanças de hábitos de vida e o aumento da prevalência da obesidade no mundo ocidental, esteatohepatite não alcoólica (NASH) tem se tornado importante causa de cirrose nos últimos anos¹⁵.

A hipertensão portal é uma síndrome clínica que ocorre quando o gradiente de pressão da veia porta ultrapassa 5 mmHg. No paciente com cirrose, decorre do aumento de resistência vascular intra-hepática devido à importante distorção arquitetural, com fibrose e nódulos de regeneração¹⁶ e, em menor escala, por vasoconstrição dos vasos intra-hepáticos¹⁷. Apesar da formação de veias colaterais porto-sistêmicas, desviando o sangue portal para a circulação sistêmica, com a progressão da hipertensão portal ocorre um aumento da produção local de vasodilatadores, principalmente o óxido nítrico, levando à dilatação arterial do território esplâncnico¹⁸. De forma compensatória, o paciente evolui com significativo aumento do débito cardíaco e do volume plasmático, sendo este último de distribuição irregular, priorizando os vasos esplâncnicos. Com a

progressão da vasodilatação, o paciente passa a apresentar hipotensão, desencadeando o aumento da produção de vasoconstritores como resposta homeostática¹⁹. O resultado final é o de um estado circulatório hiperdinâmico, típico do paciente com cirrose em fases moderadas e avançadas.

Apesar das respostas compensatórias descritas, com o aumento de volume plasmático local e da resistência intra-hepática, ocorre aumento da pressão no sistema porta²⁰. A forma mais adequada de expressar esta pressão é mediante a medida do gradiente de pressão venosa hepático (GPVH), que é uma estimativa indireta da pressão portal^{16,21}. Quando o GPVH ultrapassa valores de 10mmHg, as varizes se formam²². Valores acima de 12 mmHg estão associados ao aumento no risco de ruptura varicosa, que continua a ser uma das principais causas de óbito na cirrose, alcançando mortalidade entre 16-24% em até 6 semanas do evento²³⁻²⁵. Estes episódios estão relacionados aos fatores locais do vaso, principalmente à tensão provocada na parede da variz. A tensão, por sua vez, é influenciada pelo tamanho do vaso (varizes de maior diâmetro tem maior probabilidade de romper que as de menor diâmetro, considerando-se pressões iguais) e pela hipertensão portal (expressa pelo GPVH)²⁶.

Para que as manifestações clínicas surjam é necessário que cerca de 80 a 90% do parênquima hepático seja destruído¹². A combinação de hipertensão portal e insuficiência hepática resulta no quadro clínico multisistêmico típico da cirrose que se expressa por ascite, encefalopatia hepática, icterícia, sangramento varicoso, predisposição a infecções, síndromes hepatorenal e hepatopulmonar, hipertensão arterial pulmonar, cardiomiopatia cirrótica e coagulopatia.

Dois escores são utilizados internacionalmente para estabelecer prognóstico e avaliar necessidade de transplante hepático: 1) Child-Turcotte-Pugh²⁷ e 2) MELD, do inglês Model for End-Stage Liver Disease score (ou Modelo para Doença Hepática Estádio Terminal)²⁸ (anexo A).

A coagulopatia tem sido muito valorizada na história evolutiva da cirrose. Resultados dos testes de coagulação fazem parte dos escores prognósticos e influenciam a decisão de instituir profilaxia contra trombose venosa e a política transfusional nesses pacientes.

1.1.3 Fisiologia da coagulação em indivíduos saudáveis

Para compreender as complexas alterações na coagulação da cirrose, é fundamental revisar brevemente os conceitos básicos de hemostasia.

Trata-se de um sistema complexo e dinâmico que integra fatores humorais e celulares com objetivo de formar trombo no sítio vascular lesado. Este processo tem início quando o fator VII e as plaquetas entram em contato com o fator tecidual exposto e com o subendotélio lesado, respectivamente²⁹. As plaquetas, então, iniciam processo de adesão, ativação, agregação e secreção, com mudança conformacional e exposição de uma membrana de fosfolípidos de carga negativa, onde serão ancorados os complexos enzimáticos, compostos por fatores de coagulação, receptores e enzimas. Assim inicia-se a cascata da coagulação, descrita em 1964 por MacFarlane e caracterizada por modelo com as vias extrínseca, intrínseca e comum (figura 1)^{30,31}.

O resultado da cascata é a geração de trombina – fator II ativado (FIIa) –, que, por sua vez, realizará a quebra das moléculas de fibrinogênio em uma densa rede de fibrina, uma proteína impermeável. Esta rede, junto aos agregados plaquetários e sob a ação estabilizadora do fator XIII, representa a formação do trombo, que interrompe o sangramento e inicia o processo de remodelação tecidual e cicatrização.

Figura 1 – Esquema da cascata da coagulação com duas vias, proposto em 1964^{30,31}.

CAPM: cininogênio de alto peso molecular. PK: pré-caliceína

FONTE: Franco RF, 2001³²

Mecanismos rígidos de controle evitam a ativação excessiva do sistema, a formação inadequada de fibrina e a oclusão vascular. Os principais fatores envolvidos para manter este equilíbrio são os anticoagulantes naturais – proteínas S e C e antitrombina (PS, PC, AT), o inibidor de fator tecidual TFPI (do inglês *tissue factor pathway inhibitor*) e o processo de fibrinólise. Neste último, o plasminogênio é convertido em plasmina, cliva a fibrina formada, lisando o coágulo³².

No processo de hemostasia, a trombina atua como fator central na reação, sendo não só o mais potente agente pró-coagulante, mas também uma importante desencadeadora da anticoagulação³³. Sua ação pró-coagulante ocorre mediante amplificação da cascata da coagulação, onde pequenas quantidades de trombina inicialmente geradas, levam à potencialização do processo de coagulação por *feedback* positivos, ativando as plaquetas e os fatores VIII, XI e XIII. Esse processo leva à geração de mais trombina³³.

No processo de anticoagulação, a ação reguladora da trombina ocorre pela sua ligação ao seu receptor endotelial, a trombomodulina (TM), ativando a PC e seu cofator PS³⁴. A TM e o receptor endotelial da PC formam um complexo com a trombina e a PC plasmáticas, levando à inativação dos fatores V e VIII ativados e interrupção da cascata (figura 2)^{34,35}. Além disto, a trombina é o alvo de outro potente anticoagulante natural, a AT, que também atua inibindo os fatores IXa, Xa XIa e o excesso de fator tecidual³³.

Figura 2 – Ativação da proteína C. A trombomodulina (TM) é uma proteína transmembrana endotelial. A trombina (T) liga-se com alta afinidade e o complexo formado ativa a proteína C (PC). O receptor endotelial da PC, estimula a ativação da PC, a orientando-a para o complexo T-TM (painel A). A proteína C ativada se liga ao seu cofator proteína S e é liberada do complexo para a circulação, onde exercerá seu papel anticoagulante (painel B)

FONTE: Tripodi A, 2011³⁵

Esta atual visão do mecanismo de geração de trombina traduz de uma forma mais fidedigna o complexo processo de hemostasia (figura 3). Apesar do conceito de

cascata da coagulação ser ainda importante para testes laboratoriais e a avaliação da coagulação *in vitro*, sabe-se, atualmente, que as vias intrínseca e extrínseca ocorrem *in vivo* como um processo simultâneo e interdependente, associado aos mecanismos de amplificação e propagação descritos.

Figura 3 – Visão moderna da hemostasia: formação trombina como evento principal tanto da coagulação (painel A) como da anticoagulação (painel B). Também são mostrados esquemas da formação e inibição da trombina *in vitro*.
FONTE: Adaptado de Tripodi A, 2011³⁵

1.1.4 Testes laboratoriais da coagulação

Testes de triagem da hemostasia secundária - Os dois testes laboratoriais de triagem mais tradicionalmente usados para avaliação da hemostasia secundária incluem o TP e o TTPa.

O TP avalia a eficiência da via extrínseca e comum da coagulação (fatores VII, X, V, II), medindo a formação do coágulo plasmático, na presença de cálcio, fosfolípide (tromboplastina) e FT. O TTPa mede o tempo de coagulação do plasma na presença de tromboplastina parcial (cefalina, que substitui os fosfolípidos de membrana plaquetária) e de um ativador da fase de contato da coagulação (caulim, sílica ou ácido elágico). O teste avalia o sistema intrínseco da coagulação (pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular, fatores XII, XI, IX e VIII) e, em menor escala, a via comum (fatores V, X, protrombina e fibrinogênio)³⁶.

Estes testes têm como etapa final a conversão de fibrinogênio em fibrina, avaliando apenas a fase inicial da coagulação, ponto da cascata na qual apenas 5% da trombina total foi gerada (figura 4)³³.

Figura 4 – Comparação entre os testes da coagulação. A linha pontilhada mostra o ponto em que testes convencionais da coagulação (TP e TTPa) são interrompidos em relação ao teste de geração de trombina (curva preta) e ao tromboelastograma (curva cinza).
FONTE: Adaptado de Bolliger, 2012³⁷

O TP e o TTPa favorecem a avaliação dos fatores pró-coagulantes em detrimento dos anticoagulantes³⁸. São métodos sensíveis à detecção de deficiência de fatores de coagulação, como ocorre na hemofilia, mas não se alteram no estado pró-trombótico, como na deficiência de anticoagulantes naturais, por exemplo³⁹.

Os testes convencionais são considerados falhos por três razões principais: 1) são interrompidos de forma precoce, não chegando a ativar a via da anticoagulação; 2)

não contem trombomodulina, o que torna a ativação da proteína C 20.000 vezes mais lenta⁴⁰ e 3) são iniciados por altas concentrações de fator tecidual ou ativadores de contato, que não refletem condições fisiológicas⁴¹. Os glicosaminoglicanos, proteínas endoteliais relacionadas à ativação da antitrombina, também estão ausentes nas reações *in vitro* de TP e TTPa⁴².

Outro ponto importante referente às limitações dos testes de coagulação tradicionais diz respeito ao RNI, teste derivado do TP e que foi criado com objetivo de padronizá-lo quando o intuito da sua realização fosse o controle da anticoagulação com warfarina. A necessidade de padronização se devia à falta de concordância entres os diferentes laboratórios do mundo, visto que diversos tipos de tromboplastina resultavam em considerável variabilidade dos valores de TP. Esse fato representava grande dificuldade para controle da anticoagulação com drogas antagonistas da vitamina K. Assim, a Organização Mundial de Saúde (OMS) criou o Índice Internacional de Sensibilidade (ISI), obtido por uma calibração utilizando plasmas de pacientes em doses estáveis de anticoagulantes orais, contra uma “tromboplastina OMS” de referência internacional, pela seguinte fórmula: $RNI = (\text{paciente TP} / \text{média normal TP})^{ISI}$ ⁴³.

Apesar de não ter sido padronizado para outras finalidades, o uso do RNI foi extrapolado para diversas áreas da medicina, incluindo a já mencionada incorporação destes aos índices prognósticos da cirrose. Estudos demonstraram, contudo, grande variação de resultados de TP entre pacientes com cirrose para um mesmo RNI^{44,45}. Isto levou dois grupos diferentes a publicarem em 2007 trabalhos validando o uso do RNI_{liver}, que utiliza um ISI calibrado por plasmas de pacientes com cirrose, ao invés daqueles em uso de warfarina^{44,45}. Entretanto, o RNI_{liver} não foi adotado como prática rotineira na maioria dos centros do mundo por falta de reagentes específicos no mercado.

Teste de geração de trombina - Como discutido anteriormente, a trombina é o agente central da hemostasia. O teste de geração de trombina (TGT) avalia de forma global e quantifica em tempo real as etapas envolvidas na geração da trombina em processo ativado por fator tecidual sintético, na presença de cálcio e fosfolípidos. O TGT avalia as deficiências de fatores de coagulação (com exceção do XIII), além de ser sensível à ação de anticoagulantes orais, heparinas e inibidores diretos da trombina^{46,47}. O teste

reflete as reações pró e anticoagulantes que regulam a formação e a inibição da trombina.

Métodos para a geração de trombina foram pioneiramente descritos em 1953, mas eram, até então, de difícil realização e sofriam de grande variabilidade⁴⁸. Entre 1986 e 2003, Hemker e seus colaboradores desenvolveram métodos automatizados capazes de medir a geração de trombina simultaneamente em múltiplas amostras, facilitando o seu uso^{49,50}.

A técnica foi gradualmente aprimorada pela equipe de Hemker e o método mais recente utiliza substrato fluorimétrico. A reação de geração de trombina é realizada de forma contínua e comparativa a um calibrador de ação semelhante à trombina (α 2-macroglobulina-trombina). Estas duas reações são realizadas simultaneamente, em compartimentos diversos, com o plasma do mesmo paciente. As reações emitem traços fluorescentes que são lidos em tempo real por um programa de computador, empregado para subtrair os erros inerentes à reação e ao método (através do calibrador) e calcular os parâmetros decorrentes da curva de geração de trombina, chamada trombograma⁴⁷.

Os parâmetros relevantes no trombograma estão apresentados na figura 5, quais sejam: 1) tempo de latência (do inglês *lag time* - LT) – tempo em minutos decorrido até que se inicie a formação do trombo. É possível fazer analogia deste com os exames clássicos TP e TTPa, que também medem a formação inicial de fibrina; 2) pico máximo – define a concentração máxima de trombina gerada e tem correlação importante com o risco trombótico; 3) tempo para o pico (ttpico) – define a velocidade com que a trombina é formada; 4) potencial de trombina endógeno (ETP) definido pela área sob a curva corresponde ao total de trombina gerada mediante a ação dos fatores pró- e anticoagulantes existentes no plasma⁵¹. LT prolongado e a diminuição dos valores de ETP e pico indicam um estado hipocoagulante (pró-hemorrágico). Contrariamente, tempos de latência curtos e valores elevados de ETP e pico apontam para um estado hipercoagulante (pró-trombótico)⁵².

A adição de trombomodulina ao sistema do TGT para ativar a anticoagulação tem sido proposta como forma de se aproximar mais fielmente à situação *in vivo*, simulando a participação do endotélio pela presença desta proteína, que é somente exposta na parede do vaso^{2,53}.

Figura 5 – Curva de geração de trombina (trombograma) e seus parâmetros: 1) tempo de latência; 2) tempo para o pico; 3) pico máximo; e 4) potencial de trombina endógeno (ETP), definido como a área sob a curva
FONTE: Adaptado de Tripodi A, 2016⁵²

1.1.5 Visão atual da coagulopatia na cirrose

Hemostasia primária - Setenta e seis por cento dos pacientes com cirrose apresentam algum grau de plaquetopenia (<150.000 plaquetas/ mm^3), mas apenas 14% com contagens inferiores a $75.000/\text{mm}^3$ ⁵⁴. A patogênese da trombocitopenia é multifatorial e envolve produção plaquetária deficiente, devido à produção hepática diminuída de trombopoietina, hemodiluição por aumento do volume plasmático, produção de anticorpos, sequestro esplênico decorrente do hiperesplenismo pela hipertensão portal supressão medular direta pelo álcool, infecção pelo vírus da hepatite C e drogas antivirais e antibacterianas⁵⁵. Além da plaquetopenia, a função plaquetária está prejudicada por diversos motivos, incluindo aumento sérico de óxido nítrico, alteração de sinalização e disfunção da produção de tromboxano⁵⁶⁻⁵⁸.

De forma compensatória, ocorre aumento sérico importante do fator de von Willebrand (FVW)⁵⁹. Este fator é o responsável pela adesão e – em menor escala – pela agregação plaquetária. Ele também atua na geração de trombina junto aos fatores de coagulação, uma vez que é o carreador plasmático do fator VIII⁶⁰. Alguns estudos sugerem que a proteína que realiza clivagem nos multímeros do FVW, a ADAMTS 13, estaria reduzida em pacientes com cirrose, uma vez que sua produção é hepática⁶¹. Isto acarretaria diminuição da clivagem do FVW em frações menores (que são menos funcionais), resultando uma fração maior da formas ativas deste fator e,

consequentemente, em um aumento de função³⁵. O resultado final é uma função plaquetária mantida, apesar da plaquetopenia.

Tripodi e colaboradores avaliaram o papel das plaquetas na coagulação do paciente com cirrose. Para contagens plaquetárias semelhantes, não se observou diferenças na geração de trombina entre pacientes e controles (1.063 nmol/L vs. 1.167 nmol/L; $p=0,25$). Entretanto, a queda da plaquetometria frequentemente vista na cirrose de fato resultou em queda na GT. Utilizando regressão linear, foi sugerido que valores de plaquetometria em pacientes com cirrose próximos a $56.000/\text{mm}^3$ sejam capazes de produzir trombina em valores semelhantes ao de indivíduos saudáveis⁶². Apesar da relevância deste achado, a utilização de tal limite como recomendação para transfusões deve ser utilizada com cautela, posto que diversos outros agentes atuam na adesão e agregação plaquetárias *in vivo*⁶³.

Hemostasia secundária - O fígado é o principal responsável pela produção de todos fatores de coagulação, exceto o fator VIII e a subunidade A do fator de coagulação XIII, que são produzidos, sobretudo, pelo endotélio e pela medula óssea, respectivamente^{64,65}. Assim, com o avanço da disfunção hepática, ocorre prejuízo na produção de praticamente todos fatores da cascata de coagulação. Como os fatores V e VII tem as menores meias-vidas (12 e 4-6h, respectivamente) e são os procoagulantes mais reduzidos na cirrose⁶⁶, é comum observar alteração isolada do TP, exame dependente de ambos fatores.

Os fatores II, VII, IX e X tem sua atividade ligada à gama-carboxilação, um processo dependente de vitamina K e realizado pelo hepatócito. A deficiência desta vitamina ou a presença dos seus antagonistas, assim como a sua metabolização prejudicada por um fígado doente, resultam em deficiência de produção de formas ativas destes fatores⁶⁷. Pacientes com cirrose avançada apresentam deficiência de vitamina K variando entre 2 e 23%⁶⁶. As razões são diversas para a deficiência dessa vitamina lipossolúvel, como a desnutrição (em especial os etilistas), má absorção devido à redução na produção de bile pelo fígado doente, dificuldade de sua eliminação nas hepatopatias colestáticas e antagonismo direto causado pelo uso frequente de alguns antibióticos (ex: cefalosporinas)^{66,68}.

Os anticoagulantes naturais como a AT, PS e PC também são produzidos pelo fígado. Em particular, vale ressaltar que as proteínas S e C são dependentes da gama-

carboxilação pela vitamina K, o que contribui para redução dos seus níveis séricos na cirrose. Adicionalmente, a ação da PC encontra-se prejudicada pela ativação inadequada pela resistência à ação da trombomodulina (seu ativador endotelial) vista na cirrose. Assim, a resistência à TM e a deficiência dos anticoagulantes naturais resultam em um estado pró-trombótico. Este estado é reforçado pelo aumento sérico do fator VIII tipicamente visto na cirrose³⁵.

Fibrinólise - Historicamente, a fibrinólise foi considerada acelerada na cirrose devido à diminuição do inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI) e do fator XIII, e pelo aumento do ativador do plasminogênio tecidual (t-PA). Atualmente, sabe-se que mecanismos compensatórios como a deficiência de plasminogênio e o aumento do inibidor do plasminogênio ativado (PAI) são atuantes e contribuem para sua expressão clínica⁶⁹. De fato, dados publicados mais recentemente não conseguiram demonstrar a existência de fibrinólise acelerada em pacientes com cirrose quando comparados a controles³. Hoje, aceita-se que a hiperfibrinólise não seja universal na cirrose, podendo variar individualmente entre um maior risco de trombose ou de sangramento⁷⁰.

As alterações típicas da cirrose que ocorrem nas diversas fases da coagulação estão descritas na tabela 1.

Tabela 1 – Alterações típicas da cirrose nas diferentes fases da hemostasia

Fase da hemostasia	Fatores Pró-trombóticos	Fatores anticoagulantes
Hemostasia primária	VWF elevado; Baixos níveis de ADAMTS13	Defeitos funcionais plaquetários Trombocitopenia
Hemostasia secundária	Fatores anticoagulantes baixos: proteína C, proteína S, antitrombina, cofator II de heparina e a2-macroglobulina Aumento do Fator VIII Sistema anticoagulante TFPI-proteína S prejudicado	Fatores pró-coagulantes baixos: fibrinogênio, fatores II, V, VII, IX, X, XI
Hemostasia terciária	Plasminogênio sérico baixo PAI-1 sérico alto	t-PA sérico alto Valores baixos de: TAFI, Fator XIII e a-2-antiplasmina

VWF: fator de von Willebrand, TAFI: inibidor da fibrinólise ativada pela trombina, t-PA: ativador do plasminogênio tecidual, PAI: inibidor do plasminogênio ativado
FONTE: Adaptado de Potze, 2014⁷¹

Reequilíbrio - A visão atual da hemostasia na cirrose indica que a redução de ambos sistemas pró e anticoagulante permite um reequilíbrio da coagulação em um limiar mais baixo (tabela 1), mas suficiente para gerar normalmente trombina, mesmo na cirrose avançada^{2,70,72}.

Em 2005, Tripodi comparou a geração de trombina entre uma pequena população de pacientes com cirrose e uma de indivíduos saudáveis (44 pacientes em cada grupo). O estudo demonstrou que os valores de ETP estão reduzidos na cirrose: a mediana da ETP foi de 308 nM / min (40-585) para pacientes e 451 nM / min (300-632) para controles ($p < 0,001$). Entretanto, após a adição de trombomodulina – para mimetizar circunstâncias *in vivo* – a ETP nos pacientes com TM parece ser semelhante ou mesmo superior ao grupo controle, com medianas de ETP de 209 nM / min (34 a 368) para pacientes e de 188 nM / min (0 a 455) para controles. Esses valores não foram significativamente diferentes ($p < 0,50$)² (figura 6). Demonstrou-se, também, que estes pacientes apresentam resistência à trombomodulina, uma vez que a redução na formação de trombina após sua adição era proporcionalmente inferior quando comparada a indivíduos normais. O fato de a cirrose provocar aumento de resistência a uma proteína ativadora da anticoagulação, aumenta o potencial trombótico destes indivíduos.

Em 2009, estudo também *in vitro* foi realizado pelo mesmo grupo, com casuística maior (134 pacientes com cirrose e 131 indivíduos saudáveis), confirmando os resultados prévios. Também foram dosados diversos fatores de coagulação e anticoagulantes naturais, sugerindo que o estado hipercoagulante do plasma de pacientes com cirrose seja consequência principalmente do aumento de FVIII e da diminuição da PC, visto que a relação entre ambos é significativamente maior em pacientes que em controles ($p < 0,001$), e aumentou progressivamente de Child-Pugh A para C ($p < 0,001$)⁷².

É importante salientar que os resultados descritos se devem à adição de trombomodulina à reação, que está ausente em testes como TP e TTPa. Sem a adição desta proteína endotelial ao teste *in vitro* a ativação da proteína C fica prejudicada, e consequentemente, o processo de anticoagulação não é fielmente representado.

Figura 6 – Comparação da GT entre indivíduos saudáveis e as diferentes fases da cirrose. A GT – medida por ETP – de pacientes com cirrose é semelhante a de indivíduos normais quando trombomodulina é adicionada à reação; B- Relação de ETP (com e sem trombomodulina) demonstrando geração de trombina preservada e, mesmo superior, nos indivíduos com cirrose em relação aos controles e a indivíduos com trombofilia congênita (deficiência de proteína C). A geração de trombina parece aumentar com o avanço da cirrose

GT= geração de trombina; ETP= potencial de trombina endógeno

FONTE: Adaptado de Tripodi A, 2005, 2009^{2,72}

Este equilíbrio das hemostasias primária, secundária e fibrinólise é mantido na cirrose desde que não hajam fatores concomitantes para rompê-lo (figura 7). Fatores circunstanciais, como insuficiência renal, sangramentos ou infecções, podem facilmente inclinar para uma das vertentes e desencadear hemorragias ou trombozes⁷¹.

Pacientes com cirrose avançada frequentemente cursam com insuficiência renal, o que leva a uma maior tendência hemorrágica, haja vista a disfunção plaquetária da uremia, piora da anemia, e a deficiência da adesão plaquetária com o colágeno da parede vascular^{73,74}.

Como discutido anteriormente, com o aumento progressivo do regime de hipertensão portal em função da evolução da cirrose, os sangramentos digestivos varicosos tornam-se mais comuns. Apesar desse risco hemorrágico, relacionado a mecanismos hidrostáticos, pacientes com descompensação aguda da cirrose parecem estar ligeiramente mais predispostos à trombose quando comparados aos pacientes estáveis e àqueles com a síndrome conhecida em inglês por “acute on chronic liver failure” (ACLF) – ou insuficiência hepática crônica agudizada⁷⁰.

Na ACLF ocorre um decréscimo ainda mais acentuado dos pró- e anticoagulantes e um aumento da fibrinólise. Neste caso a “balança” parece tender ligeiramente mais ao sangramento^{70,75}.

Figura 7 – Reequilíbrio da hemostasia no paciente com cirrose: fatores pró e anticoagulantes mantém o paciente em um delicado equilíbrio que pode ser rompido por fatores como descompensação hepática, insuficiência renal e infecções
FONTE: Lisman T, 2010⁷⁶

Quadros infecciosos são complicações muito comuns em pacientes com cirrose, estando presentes em até 47% dos internados⁷⁷. As interações entre inflamação/infecção e a hemostasia são estudadas há muitos anos, e alterações *in vitro* demonstram um aumento do risco trombótico neste cenário, com o aumento da expressão do fator tecidual, função alterada dos anticoagulantes naturais e hipofibrinólise⁷⁸. Nos casos que evoluem com sepse, as alterações da hemostasia tornam-se mais complexas. Apesar de não haver estudos específicos sobre cirrose, nas infecções bacterianas ocorre redução tanto de pró quanto de anticoagulantes, aparente retardo na iniciação do processo de coagulação, mas com geração de trombina total normal ou aumentada⁴¹.

Os casos mais graves evoluem para coagulação intravascular disseminada (CIVD), com consumo importante de fatores de coagulação e plaquetas, com risco associado de sangramento⁷⁹.

Nas infecções bacterianas do paciente com cirrose, fatores extras devem ser considerados, como a liberação de heparinóides endógenos, o que não parece ocorrer na população controle⁷⁷. Igualmente relevante, é o fato de que a sepse seja desencadeadora de 40% dos casos de ACLF, e de que esta síndrome estaria mais relacionada a episódios de sangramento⁸⁰.

Na cirrose desencadeada por NASH, os pacientes apresentam inflamação sistêmica e maior incidência de fatores de risco para doença cardiovascular, tendo, assim, aumento do risco da trombose arterial quando comparado às cirroses

desencadeadas por outras etiologias^{81,82}. Em alinhamento com esses dados, demonstrou-se que na obesidade, principal condição associada à NASH, ocorre aumento da formação de micropartículas e da geração de trombina, favorecendo a ocorrência de estado protrombótico implicado no surgimento de trombozes venosas abdominais⁸³.

1.1.6 Manejo da coagulopatia na cirrose

Como os testes tradicionais de coagulação estão frequentemente alterados no paciente com cirrose, a ideia de um possível potencial trombótico não foi levada em consideração por muitas décadas. Setenta e seis por cento dos pacientes internados com diagnóstico de cirrose não recebem nenhum tipo de medida profilática farmacológica ou não farmacológica contra trombose⁸⁴. Entretanto, apesar dos dados serem retrospectivos e heterogêneos, uma metanálise recente sugere aumento de risco trombótico no paciente com cirrose em relação à população geral, especialmente naqueles com idade inferior a 45 anos⁸⁴⁻⁸⁶.

Além de não receberem profilaxia antitrombótica, estes doentes recebem com considerável frequência transfusões, na maior parte das vezes com finalidades profiláticas. Paradigmas estabelecidos há muitos anos são difíceis de mudar. A utilização de plasma vem aumentando ao longo dos últimos 20 anos⁸⁷, questão examinada por estudos publicados em 2016 que mostram a persistência da prática transfusional liberal na cirrose^{5,88}.

A última edição do “Guia para uso de hemocomponentes”, do Ministério da Saúde brasileiro, sugere que a transfusão de PFC antes da realização de procedimentos invasivos com o objetivo de prevenir complicações hemorrágicas no paciente com cirrose não é consenso e que faltam evidências para sua indicação. Todavia, pacientes “com sangramento ativo podem se beneficiar da reposição de fatores da coagulação a partir do PFC”¹¹. A Sociedade Americana de Hematologia ressalta que as recomendações são formuladas a partir de opinião de especialistas devido à ausência de estudos decisivos na área, mas que há evidências para se acreditar que a hemostasia estaria mantida entre alterações discretas de RNI (1,3-1,9)¹⁰. A última edição do guia da Sociedade Americana para o Estudo das Doenças do Fígado, reconhece que é prática padronizada transfundir PFC para corrigir parâmetros de coagulação (TP-RNI>1,5)

antes de biopsia hepática, porém recomenda que esta conduta seja considerada apenas em situações específicas, visto que a sua eficácia ainda está por ser estabelecida⁹.

Assim, fica claro que os limites de TP e RNI utilizados para indicar transfusão foram estabelecidos de forma arbitrária, e que o mito de transfundir pacientes com cirrose para tratar sua coagulopatia, apesar de ainda dominar à prática clínica, necessita de estudos clínicos para sua comprovação de eficácia⁸⁹.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Tivemos como objetivo principal avaliar o impacto da transfusão de PFC na geração de trombina em pacientes com cirrose.

Nossos objetivos secundários foram avaliar o impacto da transfusão em relação:

- a) aos parâmetros RNI, TP, TTPa após transfusão;
- b) à prevenção e/ou tratamento do sangramento;
- c) ocorrência de efeitos colaterais agudos relacionados à transfusão (eventos dentro de 6 horas após transfusão) .

3. MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Casuística

Pacientes consecutivos com cirrose e candidatos à transfusão de PFC foram incluídos neste estudo. O rastreamento foi realizado através da indicação clínica presente na prescrição de PFC entregue ao banco de sangue do HC-FMUSP. Todos os pacientes foram acompanhados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), no período de agosto de 2014 a janeiro de 2018.

Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- a) Diagnóstico de cirrose pela combinação de parâmetros clínicos, laboratoriais, métodos de imagem e/ou anatomopatológicos;
- b) Maiores de 18 anos;
- c) Pacientes com RNI ou TP $\geq 1,5$;
- d) Indicação pelo médico assistente do paciente de transfusão de PFC profilática para realização de procedimento invasivo e/ou terapêutica (presença de sangramento).

Critérios de exclusão:

- a) Uso de drogas que interfiram na coagulação (anticoagulantes orais ou parenterais, anti-fibrinolíticos e drogas pró-trombóticas parenterais), exceto o uso de anti-plaquetários;
- b) Trombofilias adquiridas e hereditárias previamente diagnosticadas, não relacionadas à cirrose e/ou à alterações plaquetárias. Exemplos: mutação do fator V Leiden ou do gene da protrombina, síndrome do anticorpo antifosfolípide, deficiência qualitativa ou quantitativa de antitrombina, proteínas C ou proteína S, lúpus eritematoso sistêmico, mutação G20210A do gene da protrombina, hiperhomocisteinemia;
- c) Histórico de trombose venosa profunda de repetição, exceto trombose de veia porta, visto que tal trombose está mais relacionada à diminuição de velocidade do fluxo;
- d) Diagnóstico prévio de distúrbios da hemostasia que confirmam tendência a sangramento, não relacionados à cirrose (deficiências congênitas de fatores da

coagulação e/ou seus inibidores), exceto se relacionadas à hemostasia primária (plaquetas);

- e) Gestantes;
- f) Câncer ativo, exceto neoplasia de pele não melanoma e não metastática;
- g) Transusão de plasma fresco congelado nos últimos 10 dias;
- h) Insuficiência renal crônica (>4 meses com escórias nitrogenadas alteradas);
- i) Pacientes recebendo PFC no intra-operatório
- j) Recusa em participar do estudo.

3.2 Desenho do Estudo

Trata-se de estudo prospectivo observacional, unicêntrico, nacional, desenvolvido de acordo com a metodologia STROBE (*“Strengthening the Report of Observational Studies in Epidemiology”*)⁹⁰, que avaliou a geração de trombina antes e após a transfusão de PFC em pacientes com coagulopatia decorrente de cirrose.

3.3 Financiamento

O estudo foi financiado pela FAPESP – processo número: 2015/00883-5.

3.4 Preparo do plasma

O PFC foi fornecido pelo banco de sangue da instituição, que possui certificado pela ISO 2001/2008 e é acreditado pela Associação Americana de Bancos de Sangue (AABB) para a qualidade da seleção de doadores, coleta de sangue, processamento, armazenamento, transporte e distribuição de hemocomponentes. Os plasmas utilizados foram separados do sangue total pelo processo de centrifugação (figura 8).

Figura 8 – Processo de separação do plasma a partir de sangue total
FONTE: Ministério da Saúde do Brasil, 2015¹¹

A separação e o congelamento total das unidades de plasma ocorrem, respectivamente, em até 6 horas e 8 horas a partir da coleta. O tempo máximo até o congelamento da bolsa é de 2 horas. Na rotina do banco de sangue, o armazenamento é feito a temperaturas inferiores à -30°C durante um período máximo de 24 meses. Todas as bolsas passam por inspeção visual pré-congelamento e um percentual das unidades da produção mensal é avaliado no pós-congelamento para os parâmetros: coloração atípica, presença de fibrina, presença de hemácias e de vazamento, bem como em relação aos parâmetros na tabela abaixo (tabela 2). Bolsas com alterações são descartadas.

Tabela 2 – Parâmetros de controle de qualidade do plasma

TESTES	PARÂMETROS	FREQUÊNCIA
Medida de volume	$\geq 150 \text{ ml}$	Todas as unidades coletadas
Determinação de TTPA	Até o valor do pool controle + 20%	1% ou 04 unidades (o que for maior)
Determinação de Fator VIII	$\geq 70\%$ de atividade presente pré congelamento	1% ou 04 unidades (o que for maior)
Determinação de Fator V	$\geq 70\%$ de atividade presente pré congelamento	1% ou 04 unidades (o que for maior)
Determinação de leucócitos residuais	$< 0,1 \times 10^6 / \text{mL}$	1% ou 04 unidades (o que for maior)
Determinação de hemácias residuais	$< 6,0 \times 10^6 / \text{mL}$	1% ou 04 unidades (o que for maior)
Determinação de plaquetas residuais	$< 50 \times 10^6 / \text{mL}$	1% ou 04 unidades (o que for maior)

FONTE: Ministério da Saúde do Brasil, 2015¹¹

3.5 Transfusão de plasma fresco congelado

Os pacientes receberam transfusão de PFC em doses terapêuticas (10-30mL/Kg). A decisão da necessidade de transfusão foi feita de acordo com o julgamento clínico do médico assistente. Entretanto, os pesquisadores deste estudo alertaram o prescritor quando solicitada subdose de PFC ($<10\text{mL/kg}$), cabendo a ele a

decisão de alterar ou não a prescrição para adequação de dose. O peso seco usual de pacientes com ascite, edema e/ou derrame pleural foi considerado para o cálculo da dose de PFC (mL/kg) transfundida.

3.6 Coleta, processamento das amostras do estudo

Os testes laboratoriais TGT, TP e TTPa foram realizados no Laboratório de Hemostasia do Serviço de Hematologia do HC-FMUSP.

Como o TGT é altamente afetado por variáveis pré-analíticas e analíticas, diferentes formas de coleta de sangue, preparações do plasma e seu armazenamento são fontes potenciais de variação e devem ser mantidas constantes durante todo o estudo^{47,91,92}. Assim, seguimos rigoroso procedimento operacional padrão, confeccionado especificamente para este estudo (anexo B), para controle dessas variáveis. O sangue foi coletado com tempo de torniquete inferior a 1 min, utilizando-se agulhas de tamanho mínimo de 21/23 G para evitar hemólise, em tubos plásticos à vácuo de 2,7 mL (BD Vacutainer®. Franklin Lakes, NJ. EUA), contendo 3,2% de citrato de sódio tamponado (concentração final 0,109 mol). Quando o paciente estava em uso de cateter venoso central, este era lavado com 10mL de soro fisiológico a 0,9% previamente à coleta da amostra. Cateteres contendo heparina não foram permitidos para coleta. Após desprezar os 5mL de sangue inicialmente coletados para reduzir o risco de contaminantes na amostra, procedeu-se à coleta de 10mL adicionais, passados suavemente da seringa para os tubos de citrato de sódio.

A amostra pré-transfusional foi coletada em até 7 dias antes da realização de transfusão de PFC, exceto se alteração da condição clínica do paciente, quando nova amostra foi coletada mais próxima à transfusão (apenas a amostra mais recente foi considerada). A amostra pós-transfusional foi coletada até 6 horas depois da transfusão. Tivemos o cuidado de respeitar esse prazo, de modo a garantir que os fatores da coagulação com meia-vida curta (exemplo, fator VII) não se esgotassem da amostra⁹³. O plasma pobre em plaquetas (PPP) foi preparado por centrifugação (20 minutos a 3.000g) para excluir possíveis restos plaquetários ricos em fosfolípidos, o que teria alterado o resultado da GT^{51,91,94}. A centrifugação foi mantida à temperatura controlada de 20°C (para reduzir o efeito pré-analítico da temperatura no TGT)⁵¹ e iniciada dentro de um período máximo de 2 horas depois da coleta. Após centrifugação, os dois terços

superiores do volume de plasma foram pipetados e transferidos para tubos plásticos de criopreservação, devidamente identificados. As alíquotas foram congeladas em nitrogênio líquido e mantidas a -80°C até serem testadas.

3.7 Análise das amostras

TP e TTPa - O TP foi determinado pelo método de Quick⁹⁵, utilizando-se o reagente PT-Fibrinogen HS Plus®, ISI=1,18 (HemosIL®, Instrumentation Laboratory. Bedford, MA, USA). Os resultados foram expressos em relação dos tempos (paciente/pool de plasma indivíduos normais) e RNI. O pool de indivíduos normais foi obtido a partir dos doadores do banco de sangue da instituição. Para determinação do TTPa, o reagente utilizado como fonte de tromboplastina parcial foi o APTT-SP® (HemosIL®, Instrumentation Laboratory. Bedford, MA, USA), ativado com sílica, mediante o método de Bell e Alton⁹⁶. Os resultados de TTPa foram expressos como relação dos tempos.

Ambos testes foram realizados de forma automatizada com auxílio do equipamento ACL TOP 500 (Instrumentation Laboratory. Bedford, MA, USA). TP e TTPa serão citados deste ponto em diante apenas como a relação dos tempos (paciente/pool de plasma indivíduos normais).

Potencial de geração de trombina - O teste foi realizado de acordo com técnica descrita por Hemker et al⁴⁷, utilizando-se do método fluorogênico calibrado, conhecido como CAT (The Calibrated Automated Thrombogram. Thrombinoscope®, Sinapse BV. Maastricht, Holanda), com aparelho apresentado na figura 9.

Figura 9 – Aparelho para geração de trombina utilizado no estudo: CAT (The Calibrated Automated Thrombogram, Thrombinoscope™) e placa de microtitulação de polipropileno, com 96 poços arredondados (Immulon 2Hb, Thermo Labsystems, Helsinque, Finlândia).

A determinação da geração de trombina foi realizada imediatamente após o descongelamento das amostras em banho-maria por 5 min à 37°C. O teste foi realizado em uma placa de microtitulação de polipropileno, com 96 poços de fundo arredondados (Immulon 2Hb, Thermo Labsystems, Helsinque, Finlândia). Cada poço foi preenchido com 80 µL de PPP e 20 µL de PPP-reagent, constituído de 5pM de fator tecidual (FT) recombinante e 4 µM de fosfolípides (Stago Group, Maastricht, Holanda) (figura 10). Dentre os reagentes utilizados, esclarecemos que a concentração ideal de FT não é padronizada na literatura. Valores de 5 pM de FT são comumente descritos em diferentes estudos e permitem aumentar a sensibilidade do teste^{51,94}.

As amostras foram analisadas em triplicata, sem e com adição de trombomodulina (Sekisui Diagnostics, Massachusetts, EUA) a uma concentração final de 5nM (6 poços totais). Para controle, foram preenchidos 3 poços adicionais com PPP e calibrador, resultando em um total de 18 poços por paciente: 9 para o material pré transfusional e 9 para o material obtido no período pós transfusional. Após 15 minutos de incubação à 37°C, foram adicionados automaticamente a cada poço 20 µL de FluCa, constituído de um substrato fluorogênico diluído em tampão com cálcio.

A utilização do calibrador é necessária para que sejam excluídas alterações na geração de trombina (GT) relacionadas à diferentes colorações do plasma de cada paciente (a fluorescência é sensível à cor do plasma), assim como para excluir o efeito conhecido como “intrínseco ao filtro”. Este efeito ocorre pelo fato da fluorescência gerada não ser linear ao consumo de substrato e, assim, cada nível de fluorescência requerer um fator de calibração diferente para calcular a concentração de trombina⁴⁷.

Além disso, o calibrador é utilizado para calcular a trombina do plasma do paciente, ligada a alpha-2-macroglobulina (reagente com ação similar à trombina). Assim, ao final do processo os valores obtidos pelo calibrador (trombina presente no plasma do paciente antes do início do teste) serão deduzidos da leitura da curva total de trombina, e somente a trombina gerada durante o teste será contabilizada⁹⁷.

O equipamento utilizado para a leitura do teste foi o fluorímetro Fluoroskan Ascent® (ThermoLabsystem, Helsinki, Finlândia), equipado com um conjunto de filtros de 390/460 (excitação/ emissão). A curva de geração de trombina é produzida automaticamente pelo software Thrombinoscope® (Sinapse BV. Maastricht, Holanda).

Figura 10 – Técnica de preenchimento dos poços da placa de microtitulação para teste de geração de trombina. Cada paciente teve suas amostras antes (sem e com TM) e depois da transfusão (sem e com TM) analisadas na mesma placa. Todas as quatro análises foram realizadas em triplicata. Foi realizado em triplicata o teste com calibrador nas fases pré e pós transfusional, totalizando 18 poços por paciente. Todos os poços foram preenchidos com PPP do paciente. Aos poços para análise foram acrescentados reagente contendo FT, FLP e FluCa (com ou sem adição de TM) e aos poços para controle foi adicionado o calibrador

PPP= Plasma pobre em plaquetas; FLP= fosfolípide; FT= fator tecidual; Fluca: substrato fluorogênico diluído em tampão de Cálcio; TM: trombomodulina

Os resultados do TGT foram expressos pelos seguintes parâmetros, com suas respectivas unidades de medida:

- LT (min);
- ttpico (min);
- pico máximo (nmol/L);
- ETP (nmol/L x min).

Os quatro parâmetros foram medidos sem e com adição de trombomodulina. Para o parâmetro ETP, calculamos também a razão dos seus resultados (ETP com/ ETP sem trombomodulina).

Para comparação com os pacientes do estudo, foram utilizados resultados de parâmetros de TGT obtidos em 46 indivíduos saudáveis, testados previamente no laboratório de hemostasia da instituição (tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros de geração de trombina em indivíduos normais

Parâmetro	Média (dp)	Mediana (min-max)
ETP sem TM (nmol/L*min)	1577,5 ($\pm$ 362,8)	1515,5 (1113,5-2501,5)
	914,6 ($\pm$ 457,5)	784,3 (266,3-2169,3)
ETP com TM (nmol/L*min)	0,57 ($\pm$ 0,21)	0,56 (0,19-0,93)
ETPr		
LT sem TM (min.)	3,5 ($\pm$ 0,6)	3,5 (2,1- 4,7)
LT com TM (min.)	4,1 ($\pm$ 0,7)	4,1 (2,5-6,0)
Pico sem TM (nmol/L)	297,8 ($\pm$ 54,7)	295,1 (156,1-428,1)
Pico com TM (nmol/L)	202,5 ($\pm$ 90,1)	188,4 (63,0-425,4)
ttpico sem TM (min.)	6,3 ($\pm$ 0,9)	6,1 (4,7-8,7)
ttpico com TM (min.)	6,5 ($\pm$ 0,8)	6,5 (4,6-8,7)

Parâmetros obtidos a partir de 46 indivíduos saudáveis no laboratório de hemostasia do Hospital das clínicas da FMUSP.

dp = desvio padrão; ETP: TM: trombomodulina; ETPr= relação entre ETP com TM sobre ETP sem TM; LT: tempo de latência; ttpico: tempo para o pico

3.8 Reações transfusionais agudas

O monitoramento e o registro de reações de transfusionais agudas (dentro de 24h da administração de sangue ou hemocomponentes) foram realizados para todos os doentes. As reações foram classificadas em 5 tipos, de acordo com os sintomas apresentados: 1) TRALI (*Transfusional Related Acute Lung Injury* ou lesão pulmonar aguda relacionada a transfusão): dispnéia, hipoxemia, febre, hipotensão e edema pulmonar, geralmente ocorrendo em até 6 horas após a transfusão; 2) TACO (*Transfusion Acute Circulation Overload* ou sobrecarga circulatória associada a transfusão): sintomas de dispneia, ortopnéia, edema periférico e rápido aumento da

pressão arterial; 3) RFNH (reação transfusional febril não hemolítica): calafrios e aumento de temperatura $> 1^{\circ} \text{C}$, excluídas as outras causas; 4) reações alérgicas, urticaria, erupções cutâneas, prurido, angioedema; 5) choque anafilático.

O risco de sangramento inerente a cada procedimento realizado e a classificação de gravidade da ocorrência de sangramento estão descritos nas tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 – Risco de sangramento por procedimento

Risco de sangramento	Procedimento
Alto risco	CPRE
	TIPS
	Procedimentos em sistema nervoso central
Médio risco	Cateter central
	Procedimentos com biópsias intra-abdominais e torácicas
	<ul style="list-style-type: none"> • Biopsia hepática • EDA com ligadura elástica
	Procedimentos intra-espinais (e.x.: coleta de líquido)
Baixo risco	Paracentese
	Toracocentese
	Troca de drenos
	EDA sem ligadura elástica

CPRE= colangiopancreatografia retrógrada endoscópica; TIPS= anastomose portossistêmica intra-hepática transjugular; EDA= endoscopia digestiva alta

FONTE: Adaptado de Malloy PC, 2009⁹⁸

Tabela 5 - Classificação do sangramento

Gravidade	Significado clínico
Grau 0	Nenhum sangramento
Grau 1	Pequeno sangramento que não leve o paciente a procurar um profissional de saúde fora dos horários previamente agendados
Grau 2	Sangramentos que sejam achado de exame ou que preencham pelo menos um dos seguintes critérios: 1) necessitar de intervenção médica não cirúrgica; 2) levar a hospitalização ou aumento de cuidado médico; 3) levar o paciente procurar o médico prontamente
Grau 3	Sangramento importante com queda de $>3 \text{ g/dL}$ pontos de hemoglobina que comprovadamente tenham sido causados pelo procedimento.

	Necessidade de transfusão de hemocomponentes ou de procedimento cirúrgico para controle de sangramento
Grau 4	Necessidade de transfusão de 5 UI de concentrados de hemácias dentro de <48h do procedimento
Grau 5	Sangramento fatal

FONTE: Adaptado de Mehran R, 2011⁹⁹

3.9 Aspectos éticos

O estudo foi realizado de acordo com os princípios da Declaração de Helsinki, e após à aprovação do protocolo pelo Comitê de Ética institucional (registro plataforma Brasil 742.251, número CAPPesq 12339). Todos pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo C).

3.10 Desfechos

Desfecho principal: O incremento de ao menos 15% no parâmetro de ETP foi considerado como evidencia de eficácia da transfusão de PFC.

Desfechos secundários:

- Efeito da transfusão nos parâmetros RNI, TP, TTPa;
- Efeito da transfusão nos demais parâmetros do TGT (pico, LT e ttpico);
- Número de casos de sangramento e sua gravidade;
- Número e gravidade de casos de reações transfusionais.

3.11 Análise estatística

Tamanho amostral – Estimou-se que com 40 participantes o estudo teria um poder de 80% em detectar diferenças clinicamente importantes, estimadas em aumento de 15% no parâmetro ETP após transfusão do PFC. Assumimos o valor mediano basal da ETP com TM de 1042 (610–1632) nM/L x min, conforme previamente relatado na literatura¹⁰⁰. O valor de p inferior a 5% foi considerado estatisticamente significativo.

Análise dos dados – Para análise do efeito da transfusão de PFC em relação aos valores basais dos testes laboratoriais – geração de trombina, TP/RNI e TTPa – os testes t de

Student e Wilcoxon foram usados para comparar as variáveis contínuas quando apropriado. Caso contrário especificado, os resultados foram expressos como média e desvio padrão. p-valor $<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Foi realizado um modelo de análise de covariância (ANCOVA) para avaliar o efeito das variáveis choque, gravidade da cirrose avaliada pela classificação de Child, infecção bacteriana e etiologia (álcool, NASH ou outras) nos parâmetros de GT com TM. As médias foram ajustadas por covariáveis: valores dos parâmetros de GT antes da transfusão e tempo da coleta pós transfusional. O valor de p inferior a 5% foi considerado estatisticamente significativo. Salvo quando especificado, os resultados foram apresentados como média e desvio padrão.

A análise foi realizada usando-se o *software* SAS v 9.4 (SAS Institute, Inc., 2012), Prism 4 e InStat 3 (GraphPad Inc. La Jolla, CA, EUA).

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Inclusões

Duzentos e setenta e seis pacientes foram avaliados quanto a elegibilidade para o estudo entre agosto/2014 e janeiro/2018. Cento e sessenta e oito não eram elegíveis, e 37 apresentavam critérios de exclusão, sendo as causas mais comuns a prescrição de subdose de PFC e a presença de câncer, respectivamente. Cinquenta e três pacientes tiveram seus dados analisados (figura 11).

Figura 11 – Diagrama de inclusão dos pacientes. PFC = plasma fresco congelado.

Características basais dos pacientes - As características basais dos pacientes estão resumidas na tabela 6, observando-se que a casuística foi formada fundamentalmente por pacientes com cirrose avançada, com predomínio do gênero masculino, etiologia alcoólica e mais de um terço dos casos apresentavam infecção bacteriana ativa.

Tabela 6 – Características basais dos pacientes

Variável	
Idade (anos)	51,3 ± 11,7
Sexo Masculino	37 (69,8%)
Etiologia da cirrose	
Álcool	21 (39,6%)
Hepatites virais	13 (24,5%)
NASH/criptogênica	8 (15,1%)
Cirrose biliar	6 (11,3%)
Hepatite auto-imune	5 (9,4%)
Child-Pugh	
A	1 (1,9%)
B	16 (30,2%)
C	36 (67,9%)
Escore de MELD	24,7 ± 8,1
Ascite	
Ausente	14 (26,4%)
Leve/ moderada	21 (39,6%)
Volumosa	18 (34%)
Encefalopatia hepática	
Ausente	31 (58,5%)
Grau I/II	14 (26,4%)
Grau III/IV	8 (15,1%)
Hemoglobina (g/dL)	8,6 ± 0,4
Plaqueta (x 10 ³ /mm ³)	81,4 ± 95,9
Albumina (g/dL)	2,6 ± 0,6
Bilirrubina total (mg/dL)	6,0 ± 6,7
Ureia (mg/dL)	73,4 ± 59,5
Creatinina (mg/dL)	1,7 ± 1,4
Infecção	22 (41,5%)
Instabilidade hemodinâmica	12 (22,64%)

Dados expressos em média ± desvio padrão ou n (%)

4.2 Indicação e dose de PFC

Vinte e oito pacientes (52,8%) receberam PFC profilaticamente antes de procedimentos invasivos e 25 (47,2%) para tratamento de episódio de sangramento agudo, dos quais 13 também foram submetidos a procedimentos invasivos. A maioria dos pacientes foi

submetida a procedimentos de moderado risco de sangramento (n=19; 46,3%), conforme classificação apresentada na tabela 4. Dezesete (41,4%) foram submetidos a procedimentos de baixo risco e 5 (12,1%) a de alto risco. Os procedimentos realizados foram: endoscopia digestiva alta isolada (n=10), com ligadura elástica (n=2) ou biópsia (n=1), cateter central (n=4), toracocentese (n=3), biópsia hepática transparietal (n=3), biópsia hepática transjugular (n=2), colonoscopia com biópsia (n=2), broncoscopia com biópsia (n=2), paracentese (n=2), drenagens de hematomas subaracnóides (n=2) e de parede abdominal (n=1), revascularização miocárdica (n=1), cateterismo cardíaco (n=1), conização uterina (n=1), biópsia de medula óssea (n=1), core-biópsia de gânglio (n=1), colangiopancreatografia retrógrada endoscópica (CPRE) (n=1) e uma anastomose portossistêmica intra-hepática transjugular (TIPS). A dose média de plasma transfundido foi de $11,26 \pm 1,3$ mL/kg e as medianas de tempo das coletas antes e após a transfusão foram, respectivamente, de 3h (interquartil – IQ 1,5 a 8,1) e 2h (IQ 1,1 a 3,5).

4.3 Resultados laboratoriais

Efeito da transfusão de PFC no RNI, TP e TTPa – Houve diminuição significativa ($p < 0,0001$) dos valores de RNI, TP e TTPa após a transfusão de PFC, correspondendo, respectivamente, a uma melhora de 33,7%, 33,2% e 12 % em relação aos valores basais. A normalização dos valores de RNI, TP e TTPa foi observada em 8 (15%), 21 (39%) e 51 (96%) dos 53 pacientes, respectivamente (tabela 7 e gráfico 1). O ponto de corte de 1,5 tem sido recomendado como seguro para procedimentos invasivos na literatura¹⁰.

Tabela 7 – Resultados dos testes convencionais da coagulação antes e após transfusão de plasma fresco congelado

	Transfusão de PFC		Redução (%)	p-valor
	Antes	Depois		
RNI	$2,4 \pm 1,1$	$1,8 \pm 0,5$	-33,7	< 0,0001
TP	$2,1 \pm 1,0$	$1,7 \pm 0,3$	-23,5	< 0,0001
TTPa	$1,4 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,2$	-16,6	< 0,0001

Os resultados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão.

RNI = razão normalizada internacional; TP = tempo de protrombina; TTPa = tempo de trombina parcial ativado.

Gráfico 1 – Efeito da transfusão de PFC no RNI, TP, e TTPa

As linhas vermelhas indicam o valor de normalidade (1,5 para os três testes laboratoriais)

* TP e TTPa foram descritos como a relação dos tempos

RNI: razão normalizada internacional; TP: tempo de protrombina; TTPa: Tempo de tromboplastina parcial ativada; PFC: plasma fresco congelado

Efeito da transfusão de PFC na ETP– Antes da transfusão apenas 2 (3,7%) e 24 (45,2%) dos pacientes apresentavam valores de ETP com e sem TM, respectivamente, abaixo da faixa de normalidade (definida como média $\pm$ DP) de indivíduos saudáveis (tabela 8, gráfico 2). Após a transfusão, observou-se aumento significativo em ambos ($p = 0,019$ e $p = 0,008$, respectivamente), correspondendo à variação de 8,1% e 7,9%. Vale ressaltar que a ETP com TM teve uma diminuição de 12,8% em 18 (34%) dos pacientes após a transfusão de PFC (1270 ± 256 a 1107 ± 278 nMol / L x min; $p = <0,0001$). Em relação ao ETPr, 52 (98%) dos pacientes apresentavam valores normais ou aumentados previamente à transfusão. Os valores médios permaneceram praticamente inalterados após a transfusão de PFC (de $0,81 \pm 0,13$ para $0,80 \pm 0,12$, $p = 0,75$) (tabela 9, gráfico 3).

Tabela 8 – Comparação dos valores de geração de trombina entre pacientes com cirrose (pré-transusão) e indivíduos saudáveis^a

Parâmetro de TGT	Saudáveis (n=46)	Cirrose (n=53)	p valor ^b	Normalidade ou hipercoagulabilidade na cirrose ^c
LT (min.)				
c/ TM	4,1 ± 0,8	4,5 ± 2,8	p = 0,16	43 (81%)
s/ TM	3,5 ± 0,7	3,1 ± 0,9	p < 0,0001	47 (88%)
Ttpico (min.)				
c/ TM	6,5 ± 0,8	6,6 ± 3,1	p = 0,01	43 (81%)
s/ TM	6,2 ± 0,8	5,3 ± 1	p < 0,0001	50 (85%)
Pico (nmol/L)				
c/ TM	202,5 ± 90,1	161,9 ± 62,9	p = 0,01	43 (81%)
s/ TM	297,8 ± 54,7	177,6 ± 62,7	p < 0,0001	9 (16 %)
ETP (nmol/L*min)				
c/ TM	914,6 ± 457,5	1008,2 ± 345	p = 0,1	51 (96%)
s/ TM	1577,5 ± 362,8	1251,1 ± 383,6	p < 0,0002	29 (54,7%)
razão ^d	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,1	p < 0,0001	52 (98%)

^a Valores expressos como média ± desvio padrão

^b Comparação entre os dois grupos independentes (população saudável vs. cirrose)

^c Definido como valor dentro de ± 1 DP da população saudável ou fora de um DP no sentido de aumento do risco trombótico (e.g.: < 1 DP para tempos e > 1 DP para total de trombina gerado)

^d ETP razão: ETP com TM / ETP sem TM

TGT: teste de geração de trombina; ETP: potencial de trombina endógeno; TM: trombomodulina; LT: tempo de latência; ttpico: tempo para o pico.

Gráfico 2 – Curvas de distribuição mostrando ETP com TM aumentada na cirrose em comparação a indivíduos saudáveis

Indivíduos saudáveis: curva azul; Pacientes com cirrose: curva vermelha
GT = geração de trombina; ETP: potencial de trombina endógeno

Tabela 9 – Resultados de ETP antes e após transfusão de PFC

	Transfusão de PFC		Variação(%)	p-valor
	Antes	Depois		
ETP c/ TM (nmol/L*min)	1008,2 ± 345	1089,7 ± 340,7	8,1	0,019
ETP s/ TM(nmol/L*min)	1251,1 ± 383,6	1350 ± 349,6	7,9	0,008
ETP razão	0,79 ± 0,13	0,8 ± 0,11	1	0,87

Os resultados foram expressos em média ± desvio padrão.

PFC: plasma fresco congelado; ETP = potencial de trombina endógeno

Gráfico 3 – Efeito da transfusão de PFC para no ETP com TM , sem TM e ETPr

Linha verde: média em indivíduos saudáveis; linha vermelha: média - 1 desvio padrão em indivíduos saudáveis

ETP= potencial de trombina endógeno; TM= trombomodulina; ETPr = Razão entre ETP com TM/ETP sem TM; PFC = plasma fresco congelado

Efeito da transfusão de PFC nos demais parâmetros o TGT – Apesar de haver diferença estatística entre o grupo de indivíduos saudáveis e os pacientes com cirrose para LT, ttpico e pico máximo (exceto para LT com TM), acima de 80% dos pacientes apresentaram valores basais normais ou mesmo com tendência trombótica (tabela 8). Houve melhora significativa no pico e no ttpico de geração de trombina com TM após transfusão de PFC, embora isto tenha correspondido a uma variação percentual pequena de 17,7 e 1,5%, respectivamente. Por outro lado, o tempo de latência piorou significativamente (tabela 10). A representação do efeito do PFC no pico máximo de trombina foi feita no gráfico 4.

Tabela 10 – Resultados antes e após transfusão dos demais parâmetros de geração de trombina

	Transfusão de PFC		Variação (%)	p-valor
	Antes	Depois		
LT c/ TM (min)	4,5±2,8	4,6±1,8	2,2	0,02
LT s/ TM (min)	3,1±0,9	3,2±0,8	3,2	0,02
Pico c/ TM (nMol)	161,9 ± 62,9	190,5±60,2	16,7	< 0,0001
Pico s/ TM (nMol)	177,6 ± 62	212,2 ±53,6	20,1	< 0,0001
Ttpico c/ TM (min)	6,6 ±3,2	6,5 ±1,6	-1,5	0,05
Ttpico s/ TM (min)	5,3 ± 1	5,4 ±0,8	1,8	0,2

PFC: plasma fresco congelado; LT= tempo de latência; TM = trombomodulina; ttpico = tempo para o pico

Gráfico 4 – Efeito da transfusão de PFC no pico máximo de trombina com e sem TM

Linha verde: média em indivíduos saudáveis; Linha vermelha: média – 1 desvio padrão em indivíduos saudáveis. TM = trombomodulina, PFC= plasma fresco congelado.

Análise de covariáveis: efeito da gravidade da cirrose, etiologia, e presença de infecção e choque na GT – Não foram observadas diferenças significantes nos parâmetros de geração de trombina com trombomodulina em relação à gravidade da cirrose (avaliada pelo escore de Child-Pugh) ou à etiologia (álcool, NASH ou outra). A presença de choque hemodinâmico alterou significativamente os parâmetros pico e LT ($p= 0,04$ e $0,03$, respectivamente) e a presença de infecção alterou significativamente o pico ($p= 0,04$). Os resultados estão apresentados nas tabelas 11, 12, 13 e 14.

Tabela 11 – Análise de covariância da presença de choque em relação aos parâmetros de geração de trombina

Variável	Choque – Média [IC 95%]		Comparações	
	Não (n = 41)	Sim (n = 12)	Diferença Não vs. Sim [IC 95%]	p-valor
ETP TM (nmol/L*min)				
Antes do PFC	1024,68 [906,79; 1142,58]	951,71 [808,24; 1095,17]		
Depois do PFC	1105,05 [1033,00; 1177,09]	1037,09 [903,60; 1170,57]	67,96 [-83,95; 219,87]	0,37
ETP razão				
Antes do PFC	0,79 [0,75; 0,84]	0,82 [0,78; 0,86]		
Depois do PFC	0,81 [0,78; 0,83]	0,77 [0,72; 0,82]	0,04 [-0,02; 0,09]	0,19
LT TM (min.)				
Antes do PFC	4,29 [3,39; 5,19]	5,11 [3,55; 6,66]		
Depois do PFC	4,29 [3,80; 4,77]	5,46 [4,56; 6,36]	-1,17 [-2,19; -0,15]	0,03
Pico TM (nmol/L)				
Antes do PFC	166,54 [146,10; 186,99]	146,19 [110,81; 181,57]		
Depois do PFC	197,47 [183,51; 211,44]	166,53 [140,57; 192,48]	30,95 [1,38; 60,52]	0,04

ETP = potencial de trombina endógeno ; TM = trombomodulina; PFC= plasma fresco congelado; LT= tempo de latência.

Tabela 12 – Análise de covariância da variável Child-Pugh em relação aos parâmetros de geração de trombina

Variável	Child – Média [IC 95%]		Comparações	p-valor
	A ou B (n = 17)	C (n = 36)	Diferença A ou B vs. C [IC 95%]	
ETP TM (nmol/L*min)				
Antes do PFC	1126,6 [930,0; 1323,7]	952,11 [845,23; 1059,99]		
Depois do PFC	1081,8 [966,8; 1196,8]	1093,39 [1015,21; 1171,57]	-11,62 [-152,45; 129,22]	0,87
ETP razão				
Antes do PFC	0,78 [0,72; 0,84]	0,80 [0,76; 0,85]		
Depois do PFC	0,81 [0,77; 0,85]	0,79 [0,77; 0,82]	0,02 [-0,03; 0,07]	0,45
LT TM (min.)				
Antes do PFC	4,59 [2,50; 6,68]	4,42 [3,77; 5,08]		
Depois do PFC	4,28 [3,50; 5,07]	4,68 [4,14; 5,22]	-0,39 [-1,35; 0,58]	0,41
Pico TM (nmol/L)				
Antes do PFC	194,59 [159,63; 229,54]	146,52 [127,97; 165,06]		
Depois do PFC	201,11 [177,66; 224,56]	185,44 [169,72; 201,15]	15,67 [-13,39; 44,75]	0,28

ETP = potencial de trombina endógeno ; TM = trombomodulina; PFC= plasma fresco congelado; LT= tempo de latência.

Tabela 13 – Análise de covariância da presença de infecção em relação aos parâmetros de geração de trombina

Variável	Infecção – Média [IC 95%]		Comparações	
	Não (n = 31)	Sim (n = 22)	Diferença Não vs. Sim [IC 95%]	p- valor
ETP TM (nmol/L*min)				
Antes do PFC	1063,45 [948,53; 1178,37]	930,25 [762,18; 1098,32]		
Depois do PFC	1116,29 [1032,17; 1200,42]	1052,13 [951,58; 1152,68]	64,16 [-69,51; 197,83]	0,34
ETP razão				
Antes do PFC	0,81 [0,77; 0,84]	0,78 [0,71; 0,86]		
Depois do PFC	0,80 [0,77; 0,83]	0,80 [0,76; 0,84]	0,00 [-0,04; 0,05]	0,88
LT TM (min.)				
Antes do PFC	4,04 [2,92; 5,15]	5,09 [4,10; 6,09]		
Depois do PFC	4,33 [3,75; 4,92]	4,86 [4,16; 5,55]	-0,52 [-1,44; 0,40]	0,26
Pico TM (nmol/L)				
Antes do PFC	177,54 [159,50; 195,58]	139,95 [107,14; 172,77]		
Depois do PFC	201,67 [185,09; 218,24]	174,68 [154,77; 194,60]	26,98 [0,20; 53,77]	0,04

ETP = potencial de trombina endógeno ; TM = trombomodulina; PFC= plasma fresco congelado; LT= tempo de latência.

Tabela 14 – Análise de covariância de etiologia em relação aos parâmetros de geração de trombina

Variável	Etiologia – Média [IC 95%]			p-valor
	Álcool (n = 24)	NASH (n = 8)	Outras (n = 21)	
ETP TM (nmol/L*min)				
Antes do PFC	1056,00 [932,55; 1179,45]	1115,00 [862,04; 1367,96]	912,79 [729,38; 1096,19]	
Depois do PFC	1105,85 [1011,13; 1200,56]	1165,06 [1000,55; 1329,56]	1042,44 [940,12; 1144,76]	0,42
ETP razão				
Antes do PFC	0,82 [0,80; 0,84]	0,85 [0,81; 0,89]	0,75 [0,67; 0,84]	
Depois do PFC	0,81 [0,78; 0,85]	0,79 [0,73; 0,85]	0,79 [0,75; 0,83]	0,58
LT TM (min.)				
Antes do PFC	4,24 [3,58; 4,90]	3,58 [2,70; 4,45]	5,09 [3,27; 6,90]	
Depois do PFC	4,82 [4,16; 5,48]	4,25 [3,09; 5,41]	4,36 [3,64; 5,07]	0,54
Pico TM (nmol/L)				
Antes do PFC	163,71 [138,92; 188,49]	188,20 [143,72; 232,67]	149,91 [118,04; 181,78]	
Depois do PFC	184,96 [165,92; 204,01]	205,12 [171,72; 238,52]	191,18 [170,69; 211,67]	0,57

ETP = potencial de trombina endógeno ; TM = trombomodulina; PFC= plasma fresco congelado; LT= tempo de latência.

Uma análise comparativa entre as curvas geradas em indivíduos saudáveis e pacientes com cirrose (casuística completa, sem e com choque) foi feita no gráfico 5.

Gráfico 5 – Trombogramas (com trombomodulina) semelhantes em população de indivíduos saudáveis e pacientes com cirrose (casuística completa, sem e com choque)

4.4 Resultados clínicos

Sangramento: Três pacientes tiveram sangramentos com gravidade grau 3 (necessidade de transfusão), e dois com grau 2 (queda de 2-3 g/dL na hemoglobina). As características clínicas destes pacientes estão descritas na tabela 14.

Apenas dois pacientes de toda casuística apresentaram ETP com TM abaixo dos valores de referência e nenhum destes evoluiu com sangramento. A transfusão de PFC corrigiu a GT em apenas um deles. Em contrapartida, os 5 pacientes que apresentaram sangramento tinham ETP com TM dentro dos valores de normalidade. A transfusão de PFC corrigiu o TP, mas não o RNI, em 4 destes 5 pacientes.

Reações transfusionais: Foi transfundido um total de 210 unidades de PFC (média de 4 unidades/paciente). Cinco pacientes (9,4%) tiveram reações adversas relacionadas à transfusão, sendo 2 reações alérgicas leves e 3 TACOs (uma evoluindo para intubação orotraqueal por edema agudo de pulmão).

Tabela 15 – Características clínicas dos pacientes com sangramento

Identidade	48	49	95	104	113
CTP	C	B	B	C	B
Instabilidade hemodinâmica	Não	Não	Não	Não	Não
Infecção	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Indicação da transfusão	Profilática	Profilática	Profilática e terapêutica	Profilática	Profilática
Procedimento	Drenagem de HSA	Revascularização miocárdica	Drenagem de hematoma de parede abdominal	Colonoscopia com biópsia	Drenagem de HSA
Risco do procedimento ^a	Alto	Alto	Médio	Médio	Alto
Gravidade do sangramento ^b	Grau 3	Grau 3	Grau 2	Grau 2	Grau 2
Plaquetas basal (mm ³)	23.000	43.000	51.000	46.000	56.000
Transfusão de plaquetas	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Transfusão de hemácias	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
RNI pré→ pós transfusão	2,1→1,62	1,77→1,55	2,41→2,01	1,94→1,66	1,62 →1,5
TP pré→ pós transfusão	1,8→1,47	1,53 →1,42	2,11→1,8	1,76→1,49	1,55 → 1,45
ETP c/ TM pré→ pós transfusão ^c	640→973	969→ 1023	984 →881	1572 →1481	1546 → 2188
Relação pré → pós transfusão ^d	0,83→0,78	0,83 → 0,86	0,84 → 0,75	0,9 →0,84	0,86 → 0,87
Óbito em 90 dias	Sim	Sim	Sim	Sim	Não

^a Segundo Malloy et al 2009, descrito na tabela 3^b Segundo Mehran R et al 2011, descrito na tabela 4^c Valores em nMol/L x min^d Relação de ETP com trombomodulina sobre ETP sem trombomodulina

CTP: escore prognóstico de Child-Turcotte-Pugh; RNI: razão normalizada internacional; TP: tempo de protrombina; ETP: potencial de trombina endógeno; TM: trombomodulina; HSA: hemorragia subaracnóidea

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Neste trabalho prospectivo observacional buscamos esclarecer o papel da transfusão de plasma fresco congelado na coagulação do paciente com cirrose. Pacientes que receberam transfusão de PFC em doses terapêuticas por indicação de seu médico assistente e que apresentavam distúrbio da hemostasia (RNI ou TP $\geq 1,5$) tiveram amostras sanguíneas coletadas antes e entre em até 6 horas após a transfusão de PFC. Foram realizados os testes de geração de trombina, TP/RNI e TTPa em todas amostras, e os resultados pré e pós transfusionais foram analisados comparativamente.

O principal achado deste estudo é que a transfusão de plasma aumentou o ETP com TM – que teoricamente corresponde a toda quantidade de trombina gerada – em apenas 8%. Até onde sabemos, isso não foi relatado anteriormente na cirrose. É importante ressaltar que, pelo ETP com TM, antes da transfusão já eram encontradas evidências de geração normal ou alta de trombina em 96% dos indivíduos. A preservação da geração de trombina na cirrose deve-se presumivelmente a um sistema de coagulação reequilibrado, provocado pelo aumento de fator VIII e deficiência concomitante dos outros fatores pró-coagulantes e dos anticoagulantes naturais, combinada à resistência adquirida à ação da trombomodulina^{72,101}.

Após a transfusão houve melhora significativa dos principais parâmetros envolvidos no TGT: ETP e pico máximo (adicionados de TM). Em estudo semelhante ao nosso, porém realizado com simulação de transfusão de PFC *in vitro*, os autores não encontraram aumento significativo de ETP após a mistura com o *pool* de plasma de pacientes saudáveis¹⁰⁰. Considerando que o aumento encontrado em nosso estudo foi pequeno, não avaliamos que os resultados sejam conflitantes. Provavelmente esta diferença seja decorrente de mecanismos hemostáticos exclusivos das reações *in vivo*, assim como pelo uso de doses por vezes maiores de PFC no presente estudo (11,26mL/kg $\pm$ 1,3 mL), contra a possibilidade de um controle rigoroso da dose de 10mL/Kg realizado *in vitro*.

As doses de PFC infundidas (≥ 10 ml / kg) estavam dentro da faixa recomendada por diferentes diretrizes^{10,11,102}, mas o efeito observado foi modesto e limitado a poucos pacientes. Portanto, não será surpreendente se essa resposta for ainda mais baixa na prática clínica, uma vez que diversos estudos mostram que um número substancial de pacientes é usualmente transfundido com dose inferior a 10 mL/ kg^{10,103,104}.

Nossos achados de preservação do ETP nas condições basais estão alinhados com a compreensão atual do processo de coagulação na cirrose. Talvez a infusão de PFC torne o equilíbrio entre sistemas pró-coagulantes e anticoagulantes mais estável, por aumentar valores de ambos. Entretanto, a transfusão de PFC também pode diminuir a geração de trombina pela transfusão de anticoagulantes naturais. De fato, chama a atenção um aumento do tempo de latência após a transfusão no grupo total de pacientes e uma diminuição significativa da quantidade total de trombina gerada (ETP com TM) após a transfusão de PFC em mais de um terço deles, embora os valores de pico tenham melhorado. Pode-se especular que a transfusão de PFC desequilibre a geração de trombina basal que estava normal ou alta, fornecendo quantidade suficiente de proteína C, ativada pela TM, resultando na diminuição da GT observada em um número significativo de pacientes neste estudo. Embora não tenha sido relatado anteriormente em pacientes com cirrose, isso está de acordo com dados anteriores em neonatos e pacientes adultos em estado grave, que demonstraram que a infusão de PFC resulta em aumento concomitante nos níveis dos anticoagulantes naturais antitrombina, proteína C e proteína S, resultando em redução da geração de trombina^{105,106}.

Demonstramos, também, que a relação entre ETP com e sem trombomodulina (ETPr) está consideravelmente aumentada em pacientes com cirrose, quando comparada aos indivíduos normais. A avaliação do equilíbrio hemostático através desta relação foi inicialmente demonstrada por Tripodi⁷²: os valores aumentados na cirrose sugerem que estes pacientes apresentam resistência à TM, o que atuaria no sentido pró-trombótico deste fino equilíbrio da coagulação. Nossos resultados confirmam estes achados e acrescentam o conhecimento de que esta relação não se altera após a transfusão de PFC, diferentemente do ETP. Assim, a infusão de PFC não seria capaz de melhorar a resistência à TM. Entretanto, é preciso considerar a possibilidade de que o tamanho amostral não tenha sido suficiente para demonstrar diferença estatística.

Vários estudos prévios com pacientes com doença hepática crônica mostraram que a transfusão de PFC resulta na normalização dos resultados dos testes convencionais de coagulação em um pequeno número de pacientes^{7,103,107,108}. O presente estudo confirma esse achado, demonstrando a correção das razões de RNI e TP para valores <1,5 – considerado empiricamente como limite de baixo risco de sangramento – em apenas 15% e 40% dos pacientes, respectivamente.

Notavelmente, o TTPa estava em valores fisiológicos antes da transfusão em 84% dos doentes. Estudo prévio demonstrou que o alargamento do TTPa está relacionado a incidência de sangramento na cirrose, juntamente a baixos valores de fibrinogênio (<60 mg/dL) e plaquetas ($<30.000/\text{mm}^3$)¹⁰⁹. Quando comparado ao TP, a queda do TTPa seria mais tardia e mais associada a sangramento por estar relacionada a queda do fator VIII – normalmente alto na cirrose. O decréscimo do Fator VIII é associado à CIVD, observada em casos de descompensação grave de cirrose e ACLF.

Apenas 2 pacientes (3,8%) apresentavam valores de ETP com TM abaixo da normalidade e a transfusão de PFC corrigiu a geração de trombina em um deles. Nenhum deles sangrou. Apesar disto, seria precipitado dizer que ETP baixa não seja capaz de predizer o risco de sangramento. Uma casuística de 2 casos é restrita e os procedimentos realizados não eram de moderado ou alto risco para sangramento: para a paracentese nem mesmo é atualmente recomendada transfusão de PFC⁹, e biópsias de medula costumam transcorrer bem em pacientes não obesos e quando realizada correta compressão hemostática após seu término.

De forma semelhante ao relatado na literatura⁸, os casos de sangramento registrados no presente estudo não apresentaram correlação com o TP pós transfusional: dos 5 casos que evoluíram com sangramento, apenas um apresentava TP 1,8 e os outros 4 apresentavam valores inferiores ao referencial de 1,5. Estes casos tampouco apresentavam níveis baixos de ETP.

À nossa avaliação, os eventos de sangramento parecem estar mais relacionados ao alto risco do procedimento realizado: 3 eram de alto risco, e 2 de médio risco. Outro fator possivelmente relacionado são os valores plaquetários, uma vez que todos doentes apresentavam valores $\leq 56.000 \text{ mm}^3$ e dois dos casos foram submetidos a procedimentos em sistema nervoso central, quando o limiar transfusional requerido é de $100.000/\text{mm}^3$ ¹⁰.

A frequência de eventos clínicos de sangramentos e reações adversas à transfusão no presente estudo foram superiores aos encontrados na literatura, provavelmente devido à gravidade dos pacientes incluídos e à alta frequência de procedimentos de risco moderado/alto a que foram submetidos.

A inclusão de um número elevado de pacientes com infecções bacterianas e instabilidade hemodinâmica fortaleceu a generalização de nossos achados. Entre os pacientes com cirrose, esses são os mais propensos a receber transfusões de plasma na

vida real. Entretanto, justamente estes doentes são excluídos na maioria dos estudos, diante do potencial destas afecções interferirem na hemostasia⁸. As alterações hemostáticas durante a infecção e choque hemodinâmico são complexas, não tendo sido totalmente elucidadas em pacientes com cirrose. Nosso estudo sugere que a infecção bacteriana não altere substancialmente o total de trombina gerada nestes indivíduos. Durante o choque, os pacientes com cirrose tiveram o início da coagulação retardada (medido pelo LT) e um pico de trombina menor, mas foram capazes de manter sua hemostasia, uma vez que o total de trombina gerada (ETP) não estava alterado em relação a controles normais.

Achados semelhantes de GT haviam sido reportados em um estudo com pacientes com sepse (não desenhado para pacientes com cirrose) e, em outro, em pacientes com cirrose descompensada e ACLF (avaliados apenas em seu estado basal)^{41,70}. Neste último estudo, sugere-se que o tempo de latência aumentado se deva à queda proporcional de ambos pró e anticoagulantes, retardando o início do processo de coagulação, mas gerando ETP normalmente, em um processo equilibrado, mas frágil. É mais provável, porém, que o aumento do LT se deva ao decréscimo dos níveis dos fatores VII (o de menor meia vida) e V (único de produção exclusiva hepática), cenário frequentemente observado na cirrose. Esta visão está fundamentada em trabalho que estudou minuciosamente o efeito dos fatores de coagulação no TGT através da depleção seriada de cada fator de coagulação e dos anticoagulantes naturais, e demonstrou que o aumento do LT está intimamente relacionado ao decréscimo dos fatores V e VII¹¹⁰. Este mesmo estudo mostrou que o pico é mais sensível à queda dos fatores de coagulação que o ETP, o que pode justificar as médias inferiores de pico encontrada nos nossos pacientes quando comparada à indivíduos saudáveis¹¹⁰. Pode-se supor que picos de GT inferiores estejam correlacionados com maior risco de sangramento, mas, por ora, não há evidência científica para embasar tal hipótese⁷⁰.

Quando analisados em conjunto, os resultados encontrados no presente estudo sobre o efeito da transfusão na geração de trombina e nos parâmetros convencionais de coagulação dão motivos para argumentar contra o padrão de uso da PFC, que aumenta em bancos de sangue de todo o mundo, incluindo em pacientes com cirrose^{5,88,111}.

De fato, essa prática permanece pouco questionada e a conduta atual na maioria dos centros é de transfundir pacientes com cirrose e coagulopatia. Embora as sociedades americanas de hematologia e hepatologia não endossem tal prática, a falta de evidências

de alta qualidade não permitem recomendações claras nestas diretrizes. Uma exceção é o caso de sangramento varicoso, onde apesar de as opiniões serem divergentes, a última publicação da sociedade americana se posiciona contra a utilização do RNI e a transfusão de PFC neste cenário¹¹². Este foi, entretanto, o motivo de transfusão em 20% da nossa casuística. Esta prática liberal aumenta os riscos para os pacientes e produz custos substanciais.

A segurança tem sido uma das principais preocupações da transfusão de PFC. A tentativa de corrigir anormalidades nos testes de coagulação convencionais pode expor os pacientes a riscos desnecessários, sem benefício demonstrável para a maioria dos pacientes. Esses riscos sérios e potencialmente negligenciados incluem reações alérgicas graves, sobrecarga circulatória associada à transfusão, lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão e transmissão de infecções.

Ademais, transfundir pacientes com cirrose e plasma para corrigir a alteração nos testes de coagulação pode desencadear ou piorar sangramento relacionado à hipertensão portal^{113,114}. Uma metanálise de 2012 sobre a transfusão de plasma na população geral sugeriu que o PFC não alteraria o desfecho de sangramento quando realizado com intuito profilático ou preventivo em todas condições clínicas avaliadas¹¹⁵. A baixa concentração de fatores de coagulação e suas meia-vidas curtas exigem um volume alto de PFC transfundido (10-30mL/Kg), idealmente realizados a cada 6 a 8 horas¹⁰⁴, sendo apenas altos valores transfundidos (cerca de 6 Ui/paciente) capazes de corrigir TP/RNI^{103,107} (tabela 16). Atingir este aumento de volume plasmático é relativamente difícil e danoso nos pacientes com cirrose, que já apresentam uma hemodinâmica difícil de manejo⁸⁹.

O gasto financeiro é outro problema importante diante de desnecessárias transfusões de plasma. Com objetivo de estimar o custo total que pacientes com cirrose geram para o sistema público de saúde brasileiro, um estudo recrutou todos os 492 pacientes regularmente inscritos em lista de espera para o transplante hepático durante 2 anos no HC-FMUSP. O custo gerado pela utilização de hemoterapia foi de R\$ 641.585,38 (R\$ 5.886,10/paciente)¹¹⁶. Estas despesas, entretanto, podem assumir valores infinitamente maiores no serviço de saúde suplementar. Segundo dados fornecidos por um hospital particular de alto nível de São Paulo, a transfusão chega a um total de R\$ 15.000 por 4 unidades, não incluindo materiais ou hotelaria. Considerando que um terço do estoque de plasma de um banco de sangue é destinado a

pacientes cirróticos, e que 43% das indicações de PFC são profiláticas¹¹⁷ fica que claro que, ao evitar transfusões de PFC desnecessárias, a redução do encargo financeiro para os sistemas públicos e privados seria enorme.

Tabela 16 – Quantidades de plasma infundido em volume e dose necessárias para atingir determinados valores de RNI e incremento de fatores da coagulação¹

RNI alvo												
RNI	1,3			1,5			1,7			3,0		
	Vol.	Dose	Fator	Vol.	Dose	Fator	Vol.	Dose	Fator	Vol.	Dose	Fator
basal												
6	4,5	64	45	3,5	50	35	2,5	36	25	1,5	21	15
5	4,3	61	43	3,0	43	30	2,3	32	23	1,0	14	10
4	4,0	57	40	2,5	36	25	2,0	29	20	0,5	7	5
3	3,5	50	35	2,0	29	20	1,5	21	15	—	—	—
2	2,5	36	25	1,5	21	15	0,5	7	5	—	—	—

¹Os valores de volume, dose e fator foram dados em L, mL/Kg e %, respectivamente.
RNI: razão normalizada internacional. Adaptado de Holland 2006¹⁰⁷.

As limitações deste estudo devem ser reconhecidas. Foram excluídos pacientes com condições como insuficiência renal crônica, câncer, gravidez, história de trombozes de repetição ou transfusão recente, uma vez que são mais propensos a sofrer de hipercoagulabilidade. Supomos que a geração de trombina basal teria sido maior neste subgrupo de pacientes e, portanto, a ausência de benefício da transfusão de PFC mais marcante. Entretanto, como os pacientes foram seus próprios controles (amostra antes vs. depois da transfusão) e o objetivo principal da análise era o percentual de mudança na geração de trombina desencadeada pela transfusão, a inclusão destes pacientes traria dados que acrescentariam ao estudo. Acreditamos que especialmente indivíduos com carcinoma hepatocelular devam ser incluídos em futuros trabalhos devido à alta frequência desta condição na população alvo.

Os nossos achados não podem ser aplicáveis a todos os pacientes que eventualmente necessitarão de transfusão de PFC, uma vez que a geração de trombina pode ter padrões diferentes de acordo com o cenário clínico. Os poucos pacientes com cirrose em risco para sangramento parecem ser aqueles com hiperfibrinólise importante, geralmente decorrente de ACLF^{75,109}. Uma diretriz recente da Associação Americana de Bancos de Sangue, recomenda o uso de plasma após transfusão maciça de trauma e em

pacientes com hemorragia relacionada à terapia com varfarina (na ausência de concentrado de complexo protrombínico), incluindo pacientes com cirrose que atendam a esses requisitos¹¹⁸. Todos os casos devem ser individualizados.

Nosso estudo não tem um grupo “não exposto” – pacientes que não teriam recebido indicação preventiva ou profilática de transfusão mesmo com TP/RNI alterados –, pois tal conduta não era adotada no centro recrutador de forma padrão durante o período do estudo.

O TGT com plasma pobre em plaquetas utilizado para análise não leva em consideração o efeito de leucócitos, hemácias e plaquetas no processo de coagulação. A decisão em usar PPP baseia-se em alguns pontos: 1) os pacientes foram avaliados horizontalmente (antes e após a transfusão), sendo seus próprios controles; 2) apenas os efeitos da transfusão de PFC foram avaliados, e não os efeitos da transfusão de plaquetas ou hemácias; 3) pacientes com cirrose apresentam valores muito variáveis de plaquetopenia, o que poderia resultar em uma amostra não homogênea para a análise e 4) estudo prévio realizando TGT com PPP e plasma rico em plaquetas mostrou resultados semelhantes nos parâmetros de GT⁴¹.

A baixa velocidade de recrutamento foi decorrente de diversas dificuldades técnicas enfrentadas durante o estudo, sendo as principais: 1) não foi possível obter curva de TGT estável em amostras de 18 indivíduos, por motivos desconhecidos – não foi encontrada correlação com condições clínicas específicas dos pacientes em questão. O mesmo problema foi encontrado por outro grupo, que relatou a mesma dificuldade em 26 de suas 298 amostras¹¹⁹; 2) prescrição de PFC em subdose pelo médico assistente, seguindo a prática internacional de solicitar média de 2 unidades de PFC^{10,103,104}; 3) dificuldades inerentes à coleta pós transfusional realizada em janelas de tempo curtas, em horários não comerciais e apenas por equipe especializada, com intuito de evitar vieses pré-analíticos.

As dificuldades mencionadas talvez possam justificar o baixíssimo número de estudos no tema realizados *in vivo*. O Instituto Nacional de Saúde norte-americano, conhecido como NIH, iniciou um grande estudo multicêntrico com a intenção de recrutar 1300 pacientes com RNI entre 1,3-1,9, sendo submetidos a procedimentos invasivos hepáticos, randomizados para receber PFC 10ml/Kg ou nenhum tratamento antes da intervenção. Estes grupos seriam então comparados quanto a queda de hemoglobina ou necessidade de transfusão. Tal estudo responderia a diversas

importantes questões, mas teve de ser encerrado devido à baixa velocidade de recrutamento^{9,111}. Outro estudo semelhante também foi interrompido precocemente por baixa velocidade de recrutamento⁷.

Em conclusão, este estudo mostrou que a transfusão de PFC aumentou a geração de trombina com baixa magnitude e melhorou os testes convencionais de coagulação em um número limitado de pacientes com cirrose e coagulopatia. Isso ocorreu devido à geração normal ou alta de trombina em quase todos os pacientes no seu estado basal, mesmo naqueles com infecções ou choque. Além disso, a transfusão piorou a geração de trombina em um terço dos casos. Parece claro que indivíduos com cirrose e exames laboratoriais com alterações pequenas a moderados não se beneficiam de transfusão de PFC. Os casos devem ser individualizados e a utilização de limites arbitrários de TP/RNI para guiar a transfusão devem ser abandonados.

O teste de geração de trombina poderá, futuramente, identificar pacientes com baixa geração de trombina que realmente possam ter algum benefício com a transfusão de PFC. Entretanto TGT é um método diagnóstico caro, ainda pouco disponível, e carece de padronizações que permitam adequada comparação entre os estudos⁷⁰.

Isto justifica um futuro estudo controlado randomizado projetado para abordar o papel da transfusão guiada pelo teste de geração de trombina em pacientes com cirrose e coagulopatia e, ainda, a necessidade de mais robusta padronização internacional do TGT. Uma possível solução para o baixo recrutamento seria um grande estudo multicêntrico internacional. Tais trabalhos poderiam definir quem são os pacientes de alto risco para sangramento, e, se estes casos específicos, se beneficiariam de uma política transfusional mais liberal.

Desconstruir o mito da “auto-coagulação” nos pacientes com cirrose não tem se mostrado uma tarefa fácil, mas segundo a frase atribuída ao médico canadense William Osler, “quanto maior a ignorância, maior o dogmatismo”.

6. CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- 1) Todos os parâmetros de geração de trombina corrigidos por trombomodulina na cirrose se apresentavam normais ou altos antes da transfusão de PFC, considerando como normalidade mais ou menos um desvio padrão da média da população de indivíduos saudáveis;
- 2) A transfusão de PFC em pacientes com cirrose e coagulopatia aumentou a geração de trombina medida por ETP com TM, mas, de forma discreta, e em um número limitado de pacientes. Um terço dos pacientes tiveram piora de ETP com TM após a transfusão;
- 3) Pico e ttpico também apresentaram resposta significativa à transfusão de PFC, sendo esta variação importante para o pico, mas pequena para ttpico. Houve piora significativa do LT com a transfusão;
- 4) Pacientes com cirrose demoraram para iniciar o processo de coagulação (LT e ttpico alargados), tiveram picos de trombina menores, mas foram capazes de gerar trombina total (ETP com TM) de forma normal ou aumentada;
- 5) RNI, TP e TTPa apresentaram melhora significativa após a transfusão de PFC, porém, uma minoria dos pacientes atingiu normalização para níveis fisiológicos de RNI e TP (relação dos tempos $<1,5$);
- 6) A incidência de reações adversas relacionadas à transfusão foi maior neste estudo que quando comparada aos dados da literatura, provavelmente devido à gravidade dos pacientes;

7. ANEXOS

ANEXO A

ESCORES PROGNÓSTICOS DA CIRROSE

O escore de Child-Pugh combina variáveis de fácil acesso na prática clínica, com escores que variam entre 5 e 15. A pontuação resultante classifica o paciente em 3 possíveis classes prognósticas: A (5 a 6 pontos), B (7 a 9 pontos) e C (>10 pontos) (tabela 1). Em geral, a “descompensação” indica cirrose com escore de Child-Pugh > 7 (classe B de Child-Pugh), sendo este valor critério aceito para inclusão no cadastro do transplante hepático.

Classificação de Child-Turcotte-Pugh

PONTOS	1	2	3
Encefalopatia	Ausente	1 ou 2	3 ou 4
Ascite	Ausente/leve	Moderado	Volumosa
Bilirrubina (mg/dL)	<2	2-3	>3
Albumina (mg/dL)	>3.5	2.8 a 3.5	<2.8
RNI	<1.7	1.7-2.3	>2.3

Grau A= <6, B = 7 a 9, C =10 a 15. Abreviações: RNI= relação normalizada internacional

O escore de MELD é um index quantitativo obtido através de fórmula com valores de bilirrubina, creatinina, e do RNI, associados ao fato de o paciente ter ou não realizado diálise na última semana: $MELD = \{9,57 \times \log_e \text{ creatinina mg/dL} + 3,78 \times \log_e \text{ bilirrubina (total) mg/dL} + 11,20 \times \log_e \text{ RNI} + 6,42\}$, arredondando-se o resultado para o próximo número inteiro. O MELD é o escore utilizado para fila de transplante e pacientes com hepatopatia grave apresentam resultados >15²⁸.

ANEXO B

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO PARA COLETA, PROCESSAMENTO E ENVIO DAS AMOSTRAS DE SANGUE

Coleta de sangue venoso

Duas etapas de coleta

1ª – Antes da transfusão de plasma

Prazo: até 7 dias antes

Quantidade: 3 tubos com 5 mL em cada

2ª – Após transfusão de plasma

Prazo: até 4h após

Quantidade: 3 tubos com 5 mL em cada

Material de coleta

- Tipo de agulha: 21G ou 23 G
- Tipo do tubo: a vácuo com anticoagulante citrato de sódio 3,2% (tubo de tampa azul)

Técnica de coleta

Para amostras colhidas de veia periférica:

- Garroteamento pelo tempo máximo de 1 minuto. Se possível soltar o garrote antes de iniciar a aspiração do sangue.
- Se punção for traumática, desprezar o 1º tubo.

Para amostras colhidas de cateter central:

- Não coletar de cateter venoso central que contenha heparina – Ex: Cateteres para diálise como Shilley, Tenckhoff. Outros: Port-a-cath, Hickman, etc.
- Sempre fechar cateter para infusão de medicações e, então, desprezar 5 a 10 mL de sangue antes da coleta das amostras, pois não pode haver hemodiluição ou contaminação com drogas.
- Abrir as tampas dos tubos e passar gentilmente o sangue da seringa para o tubo, até a marca estabelecida.

Para amostras colhidas tanto de veia periférica como de cateter central:

- Homogeneizar as amostras: girar de um lado para outro, suavemente!!! Nunca deixe formar bolhas ou espuma.
- Os tubos devem ser transportados após a coleta até o laboratório em temperatura ambiente e centrifugados em até 45 minutos no máximo

Processamento das amostras

1) Centrifugação dos 3 tubos coletados

- 1 tubo para amostra de sangue destinada a TP e TTPa (será usado para confirmar os resultados deste testes feitos em cada centro participante):
 - Centrifugação por 15 minutos a 3.500 rpm em **centrífuga refrigerada** regulada para 18°C.
- 2 tubos para amostra de sangue destinada ao teste de geração de trombina:
 - Centrifugação por 20 minutos a 5.000 rpm em centrífuga refrigerada regulada para 18°C.

2) Separação de plasma

- Com o auxílio de uma pipeta de transferência plástica retirar um volume de plasma sem a contaminação de plaquetas, leucócitos e hemácias (ver a figura abaixo);
- Transferir o plasma coletado ($\pm 1,5$ mL) nas condições descritas acima para um tubo cônico plástico com tampa de 2 mL :

Identificação das amostras

As identificações devem ser feitas por caneta específica para tubo de criopreservação (tipo marcador permanente)

- 1- Iniciais do nome do paciente;
- 2- Sigla do Hospital de origem;
TP (será a sigla p/ TP/TTPa)
- 3- Tipo de teste realizado
GT (sigla p/ Geração de trombina)
- 4- Momento de coleta e seguido pela data
A – antes da transfusão
D – depois da transfusão

Exemplo de identificação de amostra:

Congelamento:

Congelar os tubos de criopreservação em temperaturas inferiores à -80°C e mantê-los nesta temperatura até análise das amostras.

ANEXO C

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

NOME:.....Código do projeto.....
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO:..... Nº APTO:
 BAIRRO:.....CIDADE.....
 CEP:.....
 TELEFONE: DDD (.....)

RESPONSÁVEL LEGAL.....

NATUREZA(grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M ☐ F ☐

DADOS SOBRE A PESQUISA

- 1- TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: POTENCIAL DE GERAÇÃO DE TROMBINA EM
 PACIENTES CIRRÓTICOS ANTES E APÓS A ADMINISTRAÇÃO PROFILÁTICA DE PLASMA
 FRESCO CONGELADO

PESQUISADOR PRINCIPAL: Elbio Antonio D'Amico

CARGO/FUNÇÃO: Professor-Doutor. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 28360

UNIDADE DO HCFMUSP: Serviço de Hematologia e Hemoterapia

AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO ☒	RISCO MÉDIO ☐
RISCO BAIXO ☐	RISCO MAIOR ☐

DURAÇÃO DA PESQUISA : 36 MESES

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – HCFMUSP

1- Desenho do estudo e objetivos:

Essas informações são fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem como objetivo avaliar se pacientes como o(a) senhor (a), que apresentam cirrose e tem necessidade de realizar procedimentos cirúrgicos pequenos, tais como biópsias e passagens de cateteres, mantém preservada sua capacidade de coagular o sangue normalmente. Da mesma forma que nosso sangue se coagula quando nos machucamos, formando as “casquinhas”, o corpo humano está sempre em funcionamento para evitar diversos outros tipos de sangramentos, o que chamamos de coagulação do sangue.

Pensava-se antigamente que os pacientes com cirrose tinham muita facilidade de ter sangramentos. Assim, é rotina médica transfundir sangue (especificamente uma parte do dele chamada plasma) de forma preventiva nos pacientes com cirrose e exames laboratoriais alterados antes de eles realizarem procedimentos cirúrgicos (ex: biópsia). Isso é feito para tentar evitar sangramentos.

O objetivo desta pesquisa é avaliar se realmente vocês necessitam receber essa transfusão de sangue. Para isto, colheremos um pouco de sangue antes e um pouco depois da transfusão.

2- Descrição dos procedimentos que serão realizados especificamente para a pesquisa.

- a) **Entrevista para preencher questionários:** duração de cerca de 15 minutos, visando obter dados sobre sua doença e medicações que utiliza.
- b) **Coleta de sangue de uma veia do braço,** com a finalidade de dosar substâncias que mostram alterações da coagulação por causa da cirrose.
A coleta do sangue será feita em duas fases: a primeira em até 7 dias antes de o senhor receber a transfusão de sangue programada pelo seu médico habitual. A segunda coleta será realizada dentro de 4h após a transfusão de sangue. Serão retirando 15mL de sangue em cada uma das duas coletas.
- c) **Consulta ao prontuário médico,** se necessário. Solicitamos sua autorização para consultar as informações que estão em seu prontuário e os resultados de seus exames disponíveis no sistema do hospital.
- d) **Exames de imagem:** podem ser solicitados para complemento do diagnóstico;

3- Relação dos procedimentos rotineiros (seriam feitos de qualquer maneira, pois são solicitados pelo seu próprio médico. Não são específicos da pesquisa)

- a) **Coleta de sangue para realização de exames** – coletados de uma veia do braço ou de um cateter, no caso de pacientes que possuam um.
- b) **Exames de imagem**

- c) **Transfusão uma parte do sangue, conhecida como Plasma Fresco Congelado**, que será indicada pelo seu próprio médico e será feita de forma preventiva antes do procedimento cirúrgico. O objetivo é o de tentar diminuir seu risco de sangramento.

4- Descrição dos desconfortos e risco esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3

Os desconfortos e os riscos de coleta de sangue são mínimos, como pequenos hematomas, manchas roxas e ardência local. Não é necessário jejum para colher os exames.

A transfusão de plasma tem alguns riscos, o mais comum deles em pacientes com cirrose é ficar com excesso de líquido no corpo. Os riscos e os benefícios de uma transfusão serão pesados por seu médico antes de lhe indicar a transfusão.

5- Benefícios para o participante

Talvez, no futuro, pacientes com a mesma doença do (a) Sr. (a) (ou talvez até mesmo o Sr.), que venham necessitar de biópsias e cateteres, sejam poupados de receber transfusão de sangue (plasma) e assim, também dos riscos desta transfusão.

Além disto, estaremos poupando dinheiro público investido nestas transfusões, que poderá ser revertido para um melhor uso com a saúde do nosso país. Estaremos, também, poupando bolsas de sangue (plasma), que poderão ser utilizadas em pacientes que realmente necessitem.

6- Garantia de contato com os médicos da pesquisa

Em qualquer etapa do estudo, o senhor(a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

A principal investigadora é a Dra. Amanda Rassi, que pode ser encontrada no endereço: Laboratório de coagulação do departamento de Hematologia. Prédio dos Ambulatórios, 1ª andar. Av Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, São Paulo. Telefone: 3061-5544, ramal 287. Também pode ser encontrada no Serviço de Gastroenterologia clínica, no Instituto central, 9º andar, sala 9117. Telefone: 2661-3338.

Se o(a) senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – rua Ovídio Pires de Campos, 255 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16 ou 17 ou 18 ou email: cappesq@hcnet.usp.br.

7- É garantida a liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na instituição

Os pesquisadores se comprometem a tratar no complexo HCFMUSP quaisquer danos à saúde decorrentes direta ou indiretamente da pesquisa, inclusive aqueles surgidos em situações de emergência.

- 8- Direito de confidencialidade** – Não será divulgada a identificação de nenhum paciente. Será mantido sigilo, conforme preceitua o código de ética médica.
- 9- Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas** - ao menos dos resultados que já sejam do conhecimento dos pesquisadores na data solicitação.
- 10- Despesas e compensações:** não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional ela será paga pelo orçamento da pesquisa. Fica assegurado ao paciente demandar por indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa, conforme as leis do país.
- 11- Armazenamento de amostras em biorepositório:** Solicitamos também a sua autorização para armazenar a amostra congelada de sangue colhida durante esta pesquisa para eventuais repetições das dosagens, evitando-se novas coletas.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Potencial de geração de trombina em pacientes cirróticos antes e após a administração profilática de plasma fresco congelado para realização de procedimentos invasivos”. Eu discuti com o médico responsável pela pesquisa sobre minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade

Assinatura do Paciente/ Representante legal

Data: / /

Assinatura da Testemunha

Data: / /

Para casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Somente para o responsável do projeto: Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

ANEXO D

BASE DE DADOS

CARACTERÍSTICAS BASAIS

Tabela 1 - Características basais dos pacientes, parte 1

n	CHILD	MELD	Idade (anos)	Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	Creatinina (mg/dL)	Bilirrubina (mg/dL)	Hb (g/dL)
8	C	38	41	50	3,99	4,84	6,4
11	B	27	39	372	3,95	0,41	6,2
13	C	24	51	60	0,54	9,91	12,9
14	B	45	43	100	2,92	26,97	6,5
16	C	29	56	157	1,37	1,52	6,9
19	C	29	45	5	0,74	20,6	7,2
25	C	27	32	188	0,86	18,28	10
30	B	17	52	19,9	0,51	2,13	13,9
36	C	15	51	30	0,7	1,6	10,7
39	C	22	46	28	0,99	4,95	6,9
42	B	15	21	102	0,56	1,54	13,1
47	C	24	46	93	1,51	6	8
48	C	20	53	23	0,98	3,83	9,4
49	B	23	66	45	3,07	0,95	8,4
51	C	19	28	31	0,75	2,94	6,8
53	C	36	70	54	4,1	4,08	6,6
56	B	16	62	32	0,96	2,58	12,1
60	C	19	59	37	1,39	2,51	5,9
61	C	37	52	66	3,01	9,53	6
63	C	23	40	49	0,98	8,49	9,5
72	C	24	44	47	0,68	26,88	6,7
75	B	18	56	70	1,02	4,27	10,6
77	B	14	45	11	0,64	1,79	14,1
78	B	14	22	42	0,38	1,88	3,4
82	B	13	55	56	0,76	1,19	9,5
84	C	19	45	457	0,6	5,44	5,7
86	C	29	62	48	2,5	3,6	6,7
92	B	16	61	84	0,91	2,87	11,5
93	B	17	44	32	0,89	2,43	12,8
94	C	23	32	200	1,17	9,3	5,3
95	B	31	49	51	2,66	4,7	7,9
96	B	13	53	79	1,22	0,54	4,5
98	C	33	55	46	1,18	9,08	6,6
100	C	32	64	74	2,29	2,93	6,4
2	C	20	70	115	0,98	3,31	7,8

CONTINUAÇÃO

56	29	3,5	0	Ausente	Ausente	1	0	VHB
60	109	2,8	0	Grave	Ausente	0	0	Cripto
61	176	2,7	1	Grave	Grau I/II	1	0	Alcool+ VHC
63	22	2,1	0	Grave	Ausente	1	0	CBP
72	10	2	1	Ausente	Ausente	0	0	CBP
75	32	3,5	0	Ausente	Ausente	1	0	VHB
77	20	2,5	0	Ausente	Ausente	0	0	HAI
78	33	2,9	0	Leve/ Moderada	Ausente	0	0	Cripto
82	34	2	0	Leve/ Moderada	Grau I/II	0	0	NASH
84	22	1,3	1	Leve/ Moderada	Ausente	0	0	CBS
86	66	2,8	0	Grave	Ausente	1	0	Alcool
92	22	2,6	0	Ausente	Ausente	1	0	Alcool
93	19	2,8	0	Ausente	Ausente	1	0	VHC
94	61	1,9	0	Grave	Ausente	1	0	Alcool
95	139	3,6	0	Leve/ Moderada	Ausente	1	0	Alcool
96	125	1,8	0	Ausente	Ausente	1	0	Alcool
98	63	1,5	1	Grave	Ausente	1	0	Alcool + hemocro matose
100	164	2,4	1	Grave	Grau I/II	1	0	VHC
2	110	3,2	0	Leve/ Moderada	Grau I/II	1	0	NASH
35	52	2,8	0	Ausente	Ausente	1	0	VHC
102	24	2,1	0	Grave	Ausente	0	0	CBS
104	44	2,6	0	Ausente	Ausente	1	0	Cripto
110	30	3,3	0	Ausente	Ausente	0	0	VHC
113	10	3,2	0	Ausente	Grau III	1	0	Alcool
115	52	2,4	0	Leve/ Moderada	Ausente	1	0	HAI
15	69	3,2	1	Grave	Grau I/II	1	1	VHC
38	78	1,7	1	Leve/ Moderada	Grau III	1	1	Alcool
43	107	2,7	0	Leve/ Moderada	Grau I/II	1	1	Alcool
54	87	2,3	1	Grave	Grau III	0	1	Alcool +VHC
62	60	2,6	0	Ausente	Grau I/II	1	1	CRIPTO
65	100	1,9	1	Leve	Ausente	1	1	Alcool +VHC
67	60	3	1	Grave	Grau I/II	0	1	HAI
68	174	3,2	1	Leve/ Moderada	Grau III	1	1	Cripto
29	98	1,9	1	Leve/ Moderada	Grau I/II	1	1	Alcool
88	25	2,2	0	Leve/ Moderada	Grau III	0	1	Alcool
108	304	3,1	1	Leve/ Moderada	Grau III	0	1	VHC

CONTINUAÇÃO

117	188	2,5	1	Grave	Grau III	1	1	CBS
-----	-----	-----	---	-------	----------	---	---	-----

Alb.: albumina; VHC: hepatite C, CBP: cirrose biliar primária; CBS: cirrose biliar secundária;
HAI: hepatite auto-imune; cripto: criptogênica

CONCLUSÃO

Tabela 3 – Dose de plasma infundido e tempo da coleta das amostras sanguíneas para análise em relação ao momento da infusão de plasma

n	PFCdose (mL/Kg)	TempoColetaAntes (min.)	TempoColetaDepois (min.)
8	10.5	60	110
11	10.72	6440	45
13	9.8	90	120
14	10.5	125	90
16	9.85	225	285
19	11.1	565	140
25	11.16	120	255
30	17.32	780	325
36	10	420	125
39	11.16	730	70
42	10.33	65	195
47	10.44	40	150
48	11.71	220	323
49	10	425	90
51	13.7	600	80
53	11.66	3	135
56	9.87	150	195
60	11.34	180	75
61	10.2	1140	75
63	10	220	360
72	10	30	135
75	10.48	70	100
77	10.61	990	20
78	10	100	110
82	11.77	25	265
84	10.4	80	142
86	9.6	120	90
92	10.3	10	10
93	10.98	210	60
94	11.56	4660	122
95	10.87	170	180
96	20.46	230	265
98	10.33	755	20
100	10.57	385	45
2	10.58	330	260
35	10.71	45	108
102	10.47	115	65
104	14.18	60	240
110	12.14	570	360

CONTINUAÇÃO

113	10.4	965	60
115	10.82	2280	60
15	11.9	235	70
38	12.14	150	5
43	10	90	330
54	15.8	30	150
62	10.38	340	25
65	11.65	180	60
67	11.1	182	235
68	12.08	120	40
29	10.21	370	195
88	10	245	127
108	10.63	100	60
117	13.4	540	220
PFC = plasma fresco congelado			CONCLUSÃO

RESULTADOS

Tabela 3 – Resultados do parâmetro de geração de trombina ETP* e ETP razão* pré e pós transfusão de plasma fresco congelado, com e sem trombomodulina

n	etpPre	etpPreTM	etpRazaoPre	etpPos	etpPosTM	etpRazaoPos
8	1036	850	0.82	942	939.5	0.99
11	1159	969	0.84	1177	1023	0.87
13	1050	894	0.85	1231	1009	0.82
14	1425	1168	0.82	1292	1118	0.87
16	1360	1103	0.81	1026.5	735.5	0.72
19	1082	696	0.64	1407	881	0.63
25	414	37.5	0.09	752	135	0.18
30	1 538	593	0.39	1425	1202	0.84
36	1 339	1147	0.86	732	640	0.87
39	1276	1057	0.83	1370	1121	0.81
42	2163	1663	0.77	1705	1394	0.81
47	1719	1347	0.78	1626	1336	0.82
48	1153	1000	0.87	1449	1255	0.87
49	824	683	0.83	1034	900	0.87
51	681	583	0.86	658	652.5	0.99
53	1586	1349	0.85	1609	1206.5	0.75
56	904	742	0.82	1029	850	0.83
60	1611	1266	0.79	1660	1349	0.81
61	1735	1572	0.91	1747	1481	0.85
63	1424	1139	0.79	2035	1910	0.94
72	1276	1141	0.89	1215	1067	0.88
75	1393	1126	0.81	1587	1332	0.84
						CONTINUAÇÃO

77	685	573	0.84	1168	873	0.75
78	1344	1146	0.85	1329	1107	0.83
82	764	640	0.84	1232	973	0.79
84	875.5	685	0.78	871	759	0.87
86	1047	971	0.93	1679	1629	0.97
92	1228	973.5	0.79	1222	720	0.59
93	1866	1578	0.85	1765	1375	0.78
94	1266	1038	0.82	1327	1007	0.76
95	1894	1501	0.79	1748	1364	0.78
96	620	453	0.73	851	594	0.70
98	1154	928	0.80	1224	889	0.73
100	1444	1092	0.76	1581	1226	0.78
2	1369	1250	0.91	1673	1365	0.82
35	1783	1546	0.87	2504	2188	0.87
102	1233	847	0.69	975	650	0.70
104	1024	864.5	0.84	1174	881.5	0.75
110	1453	1163	0.80	1706	1362	0.79
113	1642	1393	0.85	1614	1318	0.82
115	1604	1282	0.80	1674	1130	0.68
15	733	664	0.91	1140	937	0.82
38	1719	1490	0.86	1723	1513	0.90
43	1880	1679	0.89	1481	1380	0.93
54	889.5	721	0.81	1143	900	0.79
62	1629	1312	0.81	1625	1351	0.83
65	1057	873	0.83	1108	942	0.85
67	687	503	0.73	979	766	0.78
68	1256	874	0.70	1232	957.5	0.78
29	1197	950	0.79	1331	1021	0.77
88	948	830	0.88	1342	1028	0.77
108	1029	807	0.78	1207	976	0.81
117	840	680	0.81	1213	1033	0.85

ETP: Potencial endógeno de trombina (*expresso em nmol/L x min); TM = trombomodulina; *ETP razão: com/ sem trombomodulina)

CONCLUSÃO

Tabela 4 – Resultados dos parâmetros de geração de trombina tempo para o pico e tempo de latência/lagtime pré e pós transfusão de plasma fresco congelado, com e sem trombomodulina*

n	ttpicoPre	tticoPre TM	ttpicoPos	ttpicoPos TM	LTPre	LTPre TM	LTPos	LTpos TM
8	4	5	4	5.5	2	3.17	2.17	3.5
11	5.5	6	5	5.7	3.33	4	3	3.7
13	5.17	6	5.5	6.5	3	4	3.3	4.3
14	5.17	6	5	6	3.3	4	3	4.3
16	8	12	7	11.5	5.8	10	6.3	13.1
19	6.82	11.17	6.66	12.01	4.15	9	4.2	9.67
25	7.98	13.99	6.98	11.15	5.5	9.6	4.6	6.8

CONTINUAÇÃO

30	5	24.33	5.67	6.33	3	20	3.5	4.2
36	4.04	4.04	3.71	4.04	1.7	2.04	1.37	1.7
39	4.24	4.24	4.67	4.9	2.2	2.2	2.6	3
42	4.04	4.38	4.04	4.38	2.04	2.37	2.04	2.71
47	4.14	4.47	4.81	5.14	2.3	2.5	2.8	3.1
48	4.24	4.57	4.57	4.9	2.2	2.7	2.6	3
49	4	4.67	4.33	4.67	2.3	2.7	2.3	2.7
51	3.67	4.67	4	5.5	2	2.83	2	3.5
53	4.33	4.83	4.67	5.33	2	2.67	2.33	3.17
56	4.4	4.9	4.9	5.24	2.6	3.2	2.6	3.2
60	4.4	4.9	4.9	5.57	2.23	2.9	2.56	3.4
61	4.48	4.99	4.99	5.65	2.31	3	2.65	3.31
63	5	5.17	4.83	5.5	2.67	3.33	2.67	3.33
72	4.67	5.17	5.33	5.83	2.8	3.2	3.3	3.8
75	4.57	5.25	5.24	6.24	2.56	3.57	3.23	4.23
77	5.14	5.31	5.14	6.14	2.8	3.1	3.1	4
78	5	5.33	5	5.33	2.33	3	2.7	3.3
82	5	5.33	5.33	6.3	2.67	3	3.3	4.2
84	4.67	5.33	4.67	6.67	2.67	3.33	2.67	4.67
86	5.33	5.33	5.67	6.33	3	3.3	3.5	4.3
92	4.54	5.38	5.04	6.88	2.37	3.37	3.04	7.41
93	4.65	5.49	5.32	6.32	2.5	3.48	2.98	4.15
94	5.3	5.57	5.5	6.67	3	3.7	3.2	4.3
95	4.81	5.64	5.14	6.64	2.8	3.8	3.1	4.8
96	5.33	5.67	7	7	3.3	5.2	3.7	4.8
98	5.33	5.67	5.67	6.17	3.3	3.7	3	4
100	4.9	5.74	5.57	6.57	2.73	3.57	3.23	4.4
2	5.24	5.91	5.24	5.91	2.9	3.6	3	3.8
35	5.32	5.99	7.16	8.13	2.65	3.15	4.65	6.5
102	4.67	6.17	5.67	9	2.67	4.17	3.5	6.83
104	5	6.17	5	6.33	3	4.17	3	4.33
110	5.17	6.33	5.3	6	3.3	4.33	3.3	4.2
113	5.15	6.49	4.99	5.99	3	4.15	3	4
115	5.32	6.49	5.99	7.49	3.15	4.15	3.65	5
15	5.91	6.57	5.24	5.91	3.2	4.2	3	3.8
38	6.33	6.67	5.33	7.33	3.7	4.7	4.33	5.2
43	6	6.83	5.67	5.67	3.67	4.8	3.7	4.3
54	5.67	6.83	6	7.33	3.67	4.83	3.67	5.17
62	6.24	6.91	5.91	6.57	3.9	4.7	3.6	4.6
65	6	7.33	5.67	6.33	3.67	4.8	3.3	4.3
67	5.5	7.5	5	6	2.83	4.83	2.33	3.5
68	6.67	7.83	6	7.67	4.33	5.83	4	5.6
29	5.74	7.91	5.9	7.91	3.73	5.9	3.9	5.9
88	7.08	8.08	6.24	7.24	5	6	4.2	5.2
108	7	8.33	6	7.33	4.67	6.5	4	5.3
117	6.78	9.22	6.33	7.83	4.33	6.89	4	5.67

Tpico: tempo para o pico; LT: tempo de latência; TM = trombomodulina;

* todos valores foram expressos em minutos

CONCLUSÃO

Tabela 5 – Resultados do parâmetro de geração de trombina pico, pré e pós transfusão de plasma fresco congelado, com e sem trombomodulina*

n	picoPre	picoPreTM	picoPos	picoPosTM
8	146.8	140	169.85	169.58
11	223	215	256	241
13	182	179	222	208
14	287	274	270	255
16	222	212	201	34
19	126	108.1	202	152.6
25	56	5.5	125	24
30	267	58	256	242
36	121.6	115.9	104	98.3
39	158	155	185	179
42	253	238	271	255
47	264	248	290	272
48	158	154	194	190
49	133	127	188	182
51	98.86	97.28	131.73	128.74
53	188	181	243	204.6
56	186	179	225	210
60	176	172.56	216	201
61	237	230	262	250
63	135	123	239	228
72	207	200	232	222
75	186	175	218	213
77	130	124	232	194
78	124	110	161	154
82	139	119	231	198
84	155.4	150	182.75	173.28
86	175	169	290	291
92	179.7	161.7	206.7	140.8
93	276	265	308	280.6
94	199	187	220	187
95	314	295	324	288
96	125.7	103	158	133
98	205	187	223	187
100	162	152	217	201
2	124	123	171	160
35	238	213	318	315
102	189.8	154.7	118.9	90.7
104	128.5	125.7	175	159.64
110	268	246	312	293
113	161.7	154	208	196
115	250	223	263.4	200
15	68	65	139	135
38	197	180	199	190
				CONTINUAÇÃO

43	342	335	244	248
54	129	118	178	166
62	154	148	204	192
65	135	111	170	148
67	59.15	51.58	124.37	108.9
68	174.8	167	197	187
29	219	199	273	242
88	122	119	164	156
108	142	136	176	170
117	115.71	103.6	157.58	150

TM: Trombomodulina

*todos valores foram expressos em nmol/L

CONCLUSÃO

Tabela 6 – Resultados de RNI, TP e TTPa pré a pós transfusão de plasma fresco congelado

n	RNIpre	RNIpos	TPpre*	TPpos*	TTPapre*	TTPapos*
8	2.06	1.67	1.84	1.54	1.12	1.16
11	1.7	1.55	1.53	1.42	1.32	1.2
13	2.35	1.84	1.99	1.63	1.26	1.19
14	2	1.84	1.78	1.66	1.19	0.96
16	2.7	2.35	2.23	1.99	1.51	1.49
19	1.78	1.29	1.63	1.24	1.73	1.32
25	2.63	2.13	2.24	1.88	1.56	1.39
30	2.1	1.65	1.92	1.82	1.1	1.1
36	2.15	1.28	1.87	1.22	1.21	0.94
39	2.08	2.03	1.84	1.8	1.39	1.31
42	1.89	1.67	1.67	1.51	0.99	0.96
47	1.67	1.53	1.53	1.42	0.96	0.99
48	2.16	2.62	1.9	2.23	1.38	1.44
49	2.72	2.26	2.21	1.96	1.69	1.4
51	8	1.41	8	1.34	1.33	1.12
53	1.67	1.35	1.55	1.29	1.49	1.31
56	1.68	1.55	1.54	1.44	1.03	0.74
60	1.7	1.56	1.55	1.45	1.3	1.25
61	1.94	1.6	1.76	1.49	1.2	1.13
63	2.89	2.08	2.42	2.09	1.75	1.38
72	1.91	1.73	1.68	1.56	1.22	1.17
75	2.16	1.94	1.9	1.73	1.38	1.31
77	1.73	1.54	1.57	1.47	1.29	1.22
78	3.11	2.38	2.54	2.03	1.33	1.18
82	2.16	1.62	1.84	1.47	1.07	1.28
84	1.48	1.27	1.39	1.22	0.89	0.89
86	2.17	1.78	1.9	1.6	1.12	1.11
92	1.88	1.52	1.66	1.4	1.4	1.23
93	1.53	1.32	1.43	1.26	1.1	1.09

CONTINUAÇÃO

94	2.24	1.74	1.89	1.56	1.47	1.29
95	1.61	1.48	1.5	1.4	2.11	1.09
96	2.35	2.11	1.99	1.82	1.27	1.2
98	1.72	1.58	1.57	1.46	1.32	1.28
100	2.19	1.61	1.92	1.49	1.24	1.17
2	2.16	1.84	1.9	1.66	1.22	1.16
35	1.62	1.55	1.55	1.45	1.05	1.03
102	1.84	1.58	1.68	1.47	0.97	1.19
104	2.41	2.01	2.11	1.8	1.35	1.37
110	1.79	1.51	1.59	1.39	1.11	1.12
113	1.82	1.63	1.66	1.51	1.32	1.16
115	2.61	2.03	2.24	1.81	1.85	1.57
15	5.29	3.02	4.01	2.51	1.92	1.4
38	2.34	1.78	2.05	1.59	1.34	1.32
43	4.13	3.41	3.2	2.73	1.27	1
54	3.4	2.12	2.68	1.83	1.5	1.31
62	2.66	2.06	2.36	1.82	1.48	1.4
65	2.78	2.44	2.25	2.06	1.45	1.24
67	4.5	2.18	3.57	1.94	2.22	1.59
68	2.26	1.65	1.95	1.51	1.57	1.3
29	1.72	1.4	1.57	1.32	1.15	1.08
88	2.97	2.34	2.48	2.03	1.6	1.44
108	4.95	2.99	3.71	2.46	1.48	1.37
117	1.77	1.63	1.67	1.55	1.32	1.19

RNI: razão normalizada internacional; TP: tempo de protrombina (*expresso em razão dos tempos); TTPa: tempo de tromboplastina parcial ativada (*expresso em razão dos tempos)

CONCLUSÃO

8. REFERÊNCIAS

8. REFERÊNCIAS

1. Mannucci PM. Abnormal hemostasis tests and bleeding in chronic liver disease: are they related? No. *J Thromb Haemost.*; 2006 Apr;4(4):721–3.
2. Tripodi A, Salerno F, Chantarangkul V, Clerici M, Cazzaniga M, Primignani M, et al. Evidence of normal thrombin generation in cirrhosis despite abnormal conventional coagulation tests. *Hepatology* ; 2005;41(3):553–8.
3. Lisman T, Leebeek FWG, Mosnier LO, Bouma BN, Meijers JCM, Janssen HLA, et al. Thrombin-Activatable Fibrinolysis Inhibitor Deficiency in Cirrhosis Is Not Associated With Increased Plasma Fibrinolysis. *Gastroenterology*. 2001 Jul;121(1):131–9.
4. Caldwell S, Intagliata N. Dismantling the myth of “autoanticoagulation” in cirrhosis: An old dogma dies hard. Groszmann RJ, Iwakiri Y, Taddei TH, editors. *Hepatology*; 2012 Apr 19;55(5):1634–7.
5. Desborough MJR, Hockley B, Sekhar M, Burroughs AK, Stanworth SJ, Jairath V, et al. Patterns of blood component use in cirrhosis: a nationwide study. *Liver Int*. 2015 Nov 26;36(4):522–9.
6. Shah NL, Northup PG, Caldwell SH. A clinical survey of bleeding, thrombosis, and blood product use in decompensated cirrhosis patients. 2012 Sep;11(5):686–90.
7. Müller MC, Arbous MS, Spoelstra-de Man AM, Vink R, Karakus A, Straat M, et al. Transfusion of fresh-frozen plasma in critically ill patients with a coagulopathy before invasive procedures: a randomized clinical trial (CME). *Transfusion*. 2015 Jan 1;55(1):26–35.
8. De Pietri L, Bianchini M, Montalti R, De Maria N, Di Maira T, Begliomini B, et al. Thrombelastography-guided blood product use before invasive procedures in cirrhosis with severe coagulopathy: A randomized, controlled trial. *Hepatology*. 2016 Feb;63(2):566–73.
9. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology*; 2009 Mar 1;49(3):1017–44.
10. Szczepiorkowski ZM, Dunbar NM. Transfusion guidelines: when to transfuse. *Hematology*. American Society of Hematology; 2013 Dec 6;2013(1):638–44.
11. da Saúde do Brasil M. Guia para uso de Hemocomponentes [Internet]. 2nd ed. da Saúde do Brasil M, editor. Brasília; 2015. 1 p. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf
12. Textbook of Medicine. 22nd ed. Philadelphia; 2004 936–44.

13. Bataller R, Colmenero J, Sancho-Bru P. Etiology and pathogenesis. In: *Cirrhosis*. 2012. pp. 1–18.
14. Mokdad AA, Lopez AD, Shahraz S, Lozano R, Mokdad AH, Stanaway J, et al. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. 2014 Sep 15;;1–24.
15. Goldberg D, Ditah IC, Saeian K, Lalehzari M, Aronsohn A, Gorospe EC, et al. Changes in the Prevalence of Hepatitis C Virus Infection, Nonalcoholic Steatohepatitis, and Alcoholic Liver Disease Among Patients With Cirrhosis or Liver Failure on the Waitlist for Liver Transplantation. *Gastroenterology*; 2017 Apr 1;152(5):1090–1.
16. Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W, Practice Guidelines Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases, the Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007 Sep;46(3):922–38.
17. Rockey D. The cellular pathogenesis of portal hypertension: Stellate cell contractility, endothelin, and nitric oxide. *Hepatology* 1997 Jan;25(1):2–5.
18. Martin P-Y, Gines P, Schrier RW. Nitric Oxide as a Mediator of Hemodynamic Abnormalities and Sodium and Water Retention in Cirrhosis .Epstein FH, editor. *New England Journal of Medicine*. 1998 Aug 20;339(8):533–41.
19. Gines P, Cardenas A, Arroyo V, Rodés J. Management of Cirrhosis and Ascites. *New England Journal of Medicine*. 2004 Apr 15;350(16):1646–54.
20. Berzigotti A, Escorsell A, Bosch J. Pathophysiology of variceal bleeding in cirrhotics. *Annals of Gastroenterology*. 2001 Apr 7;14(3):150–7.
21. Groszmann RJ, Wongcharatrawee S. The hepatic venous pressure gradient: Anything worth doing should be done right. *Hepatology*. 2004;39(2):280–3.
22. Garcia-Tsao G, Groszmann RJ, Fisher RL, Conn HO, Atterbury CE, Glickman M. Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology*. 1985 May 21;5(3):419–24.
23. Carbonell N, Pauwels A, Serfaty L, Fourdan O, Lévy VG, Poupon R. Improved survival after variceal bleeding in patients with cirrhosis over the past two decades. *Hepatology* 2004 Aug 30;40(3):652–9.
24. Augustin S, Muntaner L, Altamirano JT, González A, Saperas E, Dot J, et al. Predicting Early Mortality After Acute Variceal Hemorrhage Based on Classification and Regression Tree Analysis. *YJCGH* 2009 Dec 1;7(12):1347–54.
25. Augustin S, Altamirano JE, Ibez AGA, Dot J, Abu-Suboh M, Armengol

- JRON, et al. Effectiveness of Combined Pharmacologic and Ligation Therapy in High-Risk Patients With Acute Esophageal Variceal Bleeding. *The American Journal of Gastroenterology*. Nature Publishing Group; 2011 May 31;106(10):1787–95.
26. Polio J, Groszmann RJ. Hemodynamic Factors Involved in the Development and Rupture of Esophageal Varices: A Pathophysiologic Approach to Treatment. *Seminars in Liver Disease*. 1986 Feb 23;6(4):318–31.
 27. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*. 1973 Aug;60(8):646–9.
 28. Kamath P, Wiesner RH, Dickson ER, KIM WR. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*. 2001 Feb;33(2):464–70.
 29. Morrissey JH. Tissue Factor: A Key Molecule in Hemostatic and Nonhemostatic Systems. *International Journal of Hematology* 2004 Feb 1;79(2):103–8.
 30. Macfarlane RG. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature*. 1964 May 2;202:498–9.
 31. Davie EW, Ratnoff OD. Waterfall Sequence for Intrinsic Blood Clotting. *Science*. 1964 Sep 18;145(3638):1310–2.
 32. Franco RF. Fisiologia da Coagulação, Anticoagulação e Fibrinólise. *Medicina, Ribeirao*. 2001 Jul 20;34:229–37.
 33. Mann KG. Thrombin Formation. *CHEST*. The American College of Chest Physicians; 2003 Aug 27;124(Supplement):4S–10S.
 34. Dahlbäck B. Progress in the Understanding of the Protein C Anticoagulant Pathway. *International Journal of Hematology*. 2004 Feb 1;79(2):109–16.
 35. Tripodi A, Mannucci PM. The Coagulopathy of Chronic Liver Disease. *New England Journal of Medicine*. 2011 Jul 5;365(2):147–56.
 36. da Rocha TRF, DAmico EA, de Alencar Fisher Chamone D. Diagnostico Laboratorial das Aterações em Hemostasia. In: de Arruda Martins M, Carrilho FJ, Alves VAF, de Castilho EA, Cerri GG, Wen CL, editors. *Clinica Médica*. 1st ed. Barueri; 2009. pp. 319–37.
 37. Bolliger D, Seeberger MD, Tanaka KA. Principles and Practice of Thromboelastography in Clinical Coagulation Management and Transfusion Practice. *Transfusion Medicine Reviews* 2012 Jan 1;26(1):1–13.

38. Tripodi A, Chantarangkul V, Mannucci PM. The international normalized ratio to prioritize patients for liver transplantation: problems and possible solutions. *J Thromb Haemost*. 2008 Feb;6(2):243–8.
39. Tripodi A, Primignani M, Braham S, Chantarangkul V, Clerici M, Moia M, et al. Coagulation parameters in patients with cirrhosis and portal vein thrombosis treated sequentially with low molecular weight heparin and vitamin K antagonists. *Digestive and Liver Disease*. 2016 Oct 1;48(10):1208–13.
40. Esmon CT. The roles of protein C and thrombomodulin in the regulation of blood coagulation. *J Biol Chem*. 1989 Mar 25;264(9):4743–6.
41. Collins PW, Macchiavello LI, Lewis SJ, Macartney NJ, Saayman AG, Luddington R, et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol*.; 2006 Oct;135(2):220–7.
42. Huntington JA. Mechanisms of glycosaminoglycan activation of the serpins in hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2003 Jul;1(7):1535–49.
43. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 33rd report, Technical Report Series. World Health Organization Geneva,Switzerland; 1983 Feb. Report No.: 687.
44. Bellest L, Eschwège V, Poupon R, Chazouillères O, Robert A. A modified international normalized ratio as an effective way of prothrombin time standardization in hepatology. *Hepatology*. 2007;46(2):528–34.
45. Tripodi A, Chantarangkul V, Primignani M, Fabris F, Dell’Era A, Sei C, et al. The international normalized ratio calibrated for cirrhosis (INRliver) normalizes prothrombin time results for model for end-stage liver disease calculation. *Hepatology*. 2007;46(2):520–7.
46. Brummel-Ziedins K. Models for thrombin generation and risk of disease. *J Thromb Haemost*. 2013 Jun 30;11:212–23.
47. Hemker HC, Giesen P, Dieri Al R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoort R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemos Thromb*. 2003;33(1):4–15.
48. Macfarlane GR, Biggs R. A thrombin generation test. *Journal of Clinical Pathology*. 1953 Jun 1;6:3–7.
49. Hemker HC, Willems GM, Béguin S. A computer assisted method to obtain the prothrombin activation velocity in whole plasma independent of thrombin decay processes. *Thromb Haemost*. 1986 Aug 20;56(1):9–17.
50. Hemker HC, Dieri Al R, De Smedt E, Béguin S. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost*. 2006 Nov;96(5):553–61.

51. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clinical Chemistry*. 2016 Apr 28;62(5):699–707.
52. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory. *Clinical Chemistry*. 2016 Apr 28;62(5):699–707.
53. Dargaud Y, Trzeciak MC, Bordet JC, Ninet J, Negrier C. Use of calibrated automated thrombinography +/- thrombomodulin to recognise the prothrombotic phenotype. *Thromb Haemost*. 2006 Nov;96(5):562–7.
54. Giannini EG. Review article: thrombocytopenia in chronic liver disease and pharmacologic treatment options. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006 Apr 15;23(8):1055–65.
55. Afdhal N, McHutchison J, Brown R, Jacobson I, Manns M, Poordad F, et al. Thrombocytopenia associated with chronic liver disease. *Journal of Hepatology*. European Association for the Study of the Liver; 2008 May 7;48(6):1000–7.
56. Laffi G, Marra F, Gresele P, Romagnoli P, Palermo A, Bartolini O, et al. Evidence for a storage pool defect in platelets from cirrhotic patients with defective aggregation. *Gastroenterology*. 1992 Aug;103(2):641–6.
57. Kujovich JL. Hemostatic Defects in End Stage Liver Disease. *Critical Care Clinics*. 2005 Jul;21(3):563–87.
58. Ordinas A, Escolar G, Cirera I, Viñas M, Cobo F, Bosch J, et al. Existence of a platelet-adhesion defect in patients with cirrhosis independent of hematocrit: studies under flow conditions. *Hepatology*. 1996 Nov;24(5):1137–42.
59. Lisman T, Bongers TN, Adelmeijer J, Janssen HLA, de Maat MPM, De Groot PG, et al. Elevated levels of von Willebrand Factor in cirrhosis support platelet adhesion despite reduced functional capacity. *Hepatology*. 2006;44(1):53–61.
60. Brinkhous KM, Sandberg H, Garriss JB, Mattsson C, Palm M, Griggs T, et al. Purified human factor VIII procoagulant protein: comparative hemostatic response after infusions into hemophilic and von Willebrand disease dogs. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985 Dec;82(24):8752–6.
61. Mannucci PM, Canciani MT, Forza I, Lussana F, Lattuada A, Rossi E. Changes in health and disease of the metalloprotease that cleaves von Willebrand factor. *Blood*. 2001 Nov 1;98(9):2730–5.
62. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Clerici M, Dell’Era A, Fabris F, et al. Thrombin generation in patients with cirrhosis: The role of platelets. *Hepatology*. 2006;44(2):440–5.
63. Lisman T. Re: Bleeding Risk and Management in Interventional Procedures in Chronic Liver Disease. *Journal of Vascular and*

Interventional Radiology. 2017 Sep;28(9):1336–7.

64. Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Molecular basis of blood coagulation . In: Hoffman R, Benz E, Silberstein L, Heslop H, Weitz J, Anastasi J, editors. Hematology basic principles and practice. 6 ed. Philadelphia; 2012. pp. 1821–41.
65. Wölpl A, Lattke H, Board PG, Arnold R, Schmeiser T, Kubanek B, et al. Coagulation factor XIII A and B subunits in bone marrow and liver transplantation. Transplantation. 1987 Jan;43(1):151–3.
66. Ng VL. Liver Disease, Coagulation Testing, and Hemostasis. Clinics in Laboratory Medicine. 2009 Jun;29(2):265–82.
67. Furie B, Furie BC. Molecular basis of vitamin K-dependent gamma-carboxylation. Blood. 1990 May 1;75(9):1753–62.
68. DÔRES SMCD, PAIVA SAR de, CAMPANA ÁO. Vitamina K: metabolismo e nutrição. Rev Nutr. Revista de Nutrição; 2001 Dec;14(3):207–18.
69. Lisman T, Leebeek FWG, De Groot PG. Haemostatic abnormalities in patients with liver disease. Journal of Hepatology. 2002 Aug;37(2):280–7.
70. Fisher C, Patel VC, Stoy SH, Singanayagam A, Adelmeijer J, Wendon J, et al. Balanced haemostasis with both hypo- and hyper-coagulable features in critically ill patients with acute-on-chronic-liver failure. Journal of Critical Care. Elsevier Inc; 2018 Feb 1;43(C):54–60.
71. Potze W, Porte RJ, Lisman T. Management of coagulation abnormalities in liver disease. Expert Review of Gastroenterology & Hepatology. 2014 Aug 28;9(1):103–14.
72. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Dell'Era A, Clerici M, de Franchis R, et al. An Imbalance of Pro- vs Anti-Coagulation Factors in Plasma From Patients With Cirrhosis. Gastroenterology. Elsevier Inc; 2009 Dec 1;137(6):2105–11.
73. Hedges SJ, Dehoney SB, Hooper JS, Amanzadeh J, Busti AJ. Evidence-based treatment recommendations for uremic bleeding. Nat Rev Nephrol. Nature Publishing Group; 2007 Mar 1;3(3):138–53.
74. Noris M, Remuzzi G. Uremic bleeding: closing the circle after 30 years of controversies? Blood. 1999 Oct 15;94(8):2569–74.
75. DeAngelis GA, Khot R, Haskal ZJ, Maitland HS, Northup PG, Shah NL, et al. Bleeding Risk and Management in Interventional Procedures in Chronic Liver Disease. JVIR 2016 Nov 1;27(11):1665–74.
76. Lisman T, Caldwell SH, Burroughs AK, Northup PG, Senzolo M, Stravitz RT, et al. Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: The ups

and downs. *Journal of Hepatology. European Association for the Study of the Liver*; 2010 Aug 1;53(2):362–71.

77. Montalto P, Vlachogiannakos J, Cox DJ, Pastacaldi S, Patch D, Burroughs AK. Bacterial infection in cirrhosis impairs coagulation by a heparin effect: a prospective study. *Journal of Hepatology* 2002 Oct;37(4):463–70.
78. Picoli-Quaino SK, Alves BE, Faiotto VB, Montalvao SAL, De Souza CA, Annichino-Bizzacchi JM, et al. Impairment of thrombin generation in the early phases of the host response of sepsis. *Journal of Critical Care*. 2014 Feb 1;29(1):31–6.
79. Dempfle C-E. Coagulopathy of sepsis. *Thromb Haemost. Schattauer Publishers*; 2004 Feb;91(2):213–24.
80. Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, et al. Acute-on-Chronic Liver Failure Is a Distinct Syndrome That Develops in Patients With Acute Decompensation of Cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013 Jun 1;144(7):1426–9.
81. Kadayifci A, Tan V, Ursell PC, Merriman RB, Bass NM. Clinical and pathologic risk factors for atherosclerosis in cirrhosis: A comparison between NASH-related cirrhosis and cirrhosis due to other aetiologies. *Journal of Hepatology*. 2008 Oct;49(4):595–9.
82. Tripodi A, Fracanzani AL, Primignani M, Chantarangkul V, Clerici M, Mannucci PM, et al. Procoagulant imbalance in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology. European Association for the Study of the Liver*; 2014 Jul 1;61(1):148–54.
83. Campello E, Zabeo E, Radu CM, Spiezia L, Gavasso S, Fadin M, et al. Hypercoagulability in overweight and obese subjects who are asymptomatic for thrombotic events. *Thromb Haemost*. 2015;113(1):85–96.
84. Aldawood A, Arabi Y, Aljumah A, Alsaadi A, Rishu A, Aldorzi H, et al. The incidence of venous thromboembolism and practice of deep venous thrombosis prophylaxis in hospitalized cirrhotic patients. *Thrombosis J. BioMed Central Ltd*; 2011 Jan 18;9(1):1.
85. Qi X, Ren W, Guo X, Fan D. Epidemiology of venous thromboembolism in patients with liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Intern Emerg Med. Springer Milan*; 2014 Dec 4;10(2):205–17.
86. Wu H, Nguyen GC. Liver Cirrhosis Is Associated With Venous Thromboembolism Among Hospitalized Patients in a Nationwide US Study. *YJCGH* 2010 Sep 1;8(9):800–1.
87. Pandey S, Vyas GN. Adverse effects of plasma transfusion. *Transfusion*; 2012 May 11;52(1):65S–79S.

88. Sun G, Liu X, Liu Z, Tan J, Hao Y, Shan G, et al. A multicenter study of blood component transfusion in patients with liver cirrhosis in China: Patient characteristics, transfusion practice, and outcomes. *Digestive and Liver Disease* 2016 Dec 1;48(12):1478–84.
89. Andriulli A, Tripodi A, Angeli P, Senzolo M, Primignani M, Giannini EG, et al. Hemostatic balance in patients with liver cirrhosis: Report of a consensus conference. *Digestive and Liver Disease*. 2016 May;48(5):455–67.
90. Elm von E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *The Lancet*. 2007 Oct;370(9596):1453–7.
91. Chantarangkul V, Clerici M, Bressi C, Giesen PLA, Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. *Haematologica*. 2003 May;88(5):547–54.
92. Regnault V, Béguin S, Lecompte T. Calibrated Automated Thrombin Generation in Frozen-Thawed Platelet-Rich Plasma to Detect Hypercoagulability. *Pathophysiol Haemos Thromb*. 2003 Jun 1;33(1):23–9.
93. KAUSHANSKY K. Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis. In: Williams Hematology. 8 ed. New York; 2010. p. 1666.
94. Rodgers SE, Wong A, Gopal RD, Dale BJ, Duncan EM, McRae SJ. Evaluation of Pre-analytical Variables in a Commercial Thrombin Generation Assay. *Thrombosis Research*. Elsevier Ltd; 2014 Jul 1;134(1):160–4.
95. Quick AJ. The prothrombin in hemophilia and obstructive jaundice. *J Biol Chem*. 1935 Jan;109:73.
96. BELL WN, ALTON HG. A brain extract as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test. *Nature*. 1954 Nov 6;174(4436):880–1.
97. Castoldi E, Rosing J. Thrombin generation tests. *Thrombosis Research*. 2011 Feb;127 Suppl 3:S21–5.
98. Malloy PC, Grassi CJ, Kundu S, Gervais DA, Miller DL, Osnis RB, et al. Consensus Guidelines for Periprocedural Management of Coagulation Status and Hemostasis Risk in Percutaneous Image-guided Interventions. *JVIR. SIR*; 2009 Jul 1;20(S):S240–9.
99. Mehran R, Rao SV, Bhatt DL, Gibson CM, Caixeta A, Eikelboom J, et al. Standardized Bleeding Definitions for Cardiovascular Clinical Trials: A Consensus Report From the Bleeding Academic Research Consortium. *Circulation*. 2011 Jun 13;123(23):2736–47.

100. Tripodi A, Chantarangkul V, Primignani M, Clerici M, Dell'Era A, Aghemo A, et al. Thrombin generation in plasma from patients with cirrhosis supplemented with normal plasma: considerations on the efficacy of treatment with fresh-frozen plasma. *Intern Emerg Med*; 2012 Apr;7(2):139–44.
101. Youngwon N, Kim J-E, Lim HS, Han K-S, Kim HK. Coagulation Proteins Influencing Global Coagulation Assays in Cirrhosis: Hypercoagulability in Cirrhosis Assessed by Thrombomodulin-Induced Thrombin Generation Assay. *BioMed Research International*. 2013;2013(2):1–6.
102. Yates SG, Gavva C, Agrawal D, Sarode R. How do we transfuse blood components in cirrhotic patients undergoing gastrointestinal procedures? *Transfusion*. 2016 Feb 15;56(4):791–8.
103. Youssef W. Role of fresh frozen plasma infusion in correction of coagulopathy of chronic liver disease: a dual phase study. *The American Journal of Gastroenterology*. 2003 Jun;98(6):1391–4.
104. Maltz GS, Siegel JE, Carson JL. Hematologic management of gastrointestinal bleeding. *Gastroenterol Clin North Am*. 2000 Mar;29(1):169–87–vii.
105. Müller MCA, Straat M, Meijers JCM, Klinkspoor JH, de Jonge E, Arbous MS, et al. Fresh frozen plasma transfusion fails to influence the hemostatic balance in critically ill patients with a coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2015 Apr 18;13(6):989–97.
106. Hyytiäinen S, Syrjälä M, Fellman V, Heikinheimo M, Petäjä J. Fresh frozen plasma reduces thrombin formation in newborn infants. *J Thromb Haemost*. 2003 Jun;1(6):1189–94.
107. Holland LL, Brooks JP. Toward Rational Fresh Frozen Plasma Transfusion. *Am J Clin Pathol*. 2006 Jul 1;126(1):133–9.
108. Segal JB, Dzik WH, Transfusion Medicine/Hemostasis Clinical Trials Network1. Paucity of studies to support that abnormal coagulation test results predict bleeding in the setting of invasive procedures: an evidence-based review. *Transfusion*. 2005 Sep;45(9):1413–25.
109. Drolz A, Horvatits T, Roedl K, Rutter K, Staufer K, Kneidinger N, et al. Coagulation parameters and major bleeding in critically ill patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2016 Aug;64(2):556–68.
110. Duchemin J, Pan-Petes B, Arnaud B, Blouch M-T, Abgrall J-F. Influence of coagulation factors and tissue factor concentration on the thrombin generation test in plasma. *Thromb Haemost*. Schattauer GmbH; 2008 May 1;99(04):767–73.
111. Konkle BA, Nemo GJ. Defining effective therapies in transfusion medicine and hemostasis: new opportunities with the TMH Network. *Transfusion*.

2005 Sep;45(9):1404–6.

112. Garcia-Tsao G, Abraldes JG, Berzigotti A, Bosch J. Portal hypertensive bleeding in cirrhosis: Risk stratification, diagnosis, and management: 2016 practice guidance by the American Association for the study of liver diseases. *Hepatology*; 2017 Jan 1;65(1):310–35.
113. Giannini EG, Stravitz RT, Caldwell SH. Correction of hemostatic abnormalities and portal pressure variations in patients with cirrhosis. *Hepatology*. Ltd; 2014 Aug 25;60(4):1442–2.
114. Zimmon DS, Kessler RE. The portal pressure-blood volume relationship in cirrhosis. *Gut*. 1974 Feb 15;15(2):99–101.
115. Yang L, Stanworth S, Hopewell S, Doree C, Murphy M. Is fresh-frozen plasma clinically effective? An update of a systematic review of randomized controlled trials (CME). *Transfusion*. 2012 Jan 18;52(8):1673–86.
116. de Paiva Haddad LB. Economic evaluations in gastroenterology in Brazil: A systematic review. *WJGPT*. 2016;7(1):162–10.
117. Stanworth SJ, Walsh TS, Prescott RJ, Lee RJ, Watson DM, Wyncoll D, et al. A national study of plasma use in critical care: clinical indications, dose and effect on prothrombin time. *Crit Care*. BioMed Central Ltd; 2011;15(2):R108–10.
118. Roback JD, Caldwell S, Carson J, Davenport R, Drew MJ, Eder A, et al. Evidence-based practice guidelines for plasma transfusion. *Transfusion*. 2010 Mar 19;50(6):1227–39.
119. Carlier L, Hunault G, Lerolle N, Macchi L. Ex vivo thrombin generation patterns in septic patients with and without disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis Research*. 2015 Jan 1;135(1):192–7.