

STUDIUL ANTITROMBINEI III ÎN SEPTICEMIE LA NOU-NĂSCUT

Ana Popescu, G. Vittu*, J.L. Demorv*

Clinica de Pediatrie nr. 1
Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu-Mureș
*Hopital Saint-Antoine
Faculte Libre de Medicine Lille-France

Numeroase sunt studiile din literatura medicală în care se pune în evidență rolul *trombinei* ca și *factor principal* al coagulării.

Trombina activează plachetele, celulele endoteliale, factorii plasmatici ai coagulării, amplifică reacțiile printr-un mecanism de feed-back pozitiv, care crește încă generarea trombinei (*Baumgartner*, 1991).

Dacă nu ar exista mecanisme reglatoare puternice de generare a trombinei, acest proces s-ar extinde din aproape în aproape pentru a duce la un efect coagulant exploziv, o adevărată "*furtună enzimatică*" care ar transforma tot fibrinogenul în fibrină.

Organismul însă, dispune de un mecanism puternic de autoreglare, reprezentat de inhibitorii fiziologici ai coagulării, din care cei mai importanți sunt *antitrombina III* (AT III), proteina C și S a coagulării.

Rolul pe care-l au acești inhibitori fiziologici ai coagulării în blocarea extinderii unei coagulări intravasculare rezultă și din faptul relatat de *Anne Marie Ficher*, 1990, "dacă nivelul de 30% al factorilor coagulării în plasmă este suficient pentru a opri o sângerare, atunci un nivel de cel puțin 50% din inhibitorii fiziologici este necesar pentru a împiedica o coagulare patologică".

Antitrombina III (AT III) este o glicoproteină plasmatică sintetizată în ficat și celulele endoteliale (*Jude și colab.* 1991) și este considerată cel mai important inhibitor al coagulării.

De la sfârșitul sec. al XX-lea se cunoaște existența unui sistem al reglării și apărării contra trombozelor. Astfel, *Schmidt* în 1892 și *Cautenjeau* în 1895 (citați de *Poulain*, 1990) demonstau că trombina formată în cursul coagulării este progresiv neutralizată prin plasma defibrinată sau ser. Termenul de antitrombină este introdus de *Moravitz* în 1905 pentru a distinge suportul acestei activități. Concepțiile legate de antitrombină au evoluat în timp pentru ca în 1965 *Egeburg* (cit. de *Poulain*, 1990) să facă o descriere princeps a antitrombinei III la o familie cu deficit congenital în AT III și care prezentau accidente trombo-embolice în repetiție.

În 1968 *Abildgaard* izolează o formă purificată de AT III. Actualmente concentratele de antitrombină III sunt utilizate pentru tratamentul deficitelor constituționale sau dobândite în AT III.

Antitrombina III are acțiune antitrombinică progresivă care devine imediată și foarte puternică în prezența heparinei.

AT III împreună cu trombina formează un complex inactiv prin interacțiunea centrului său arginina cu centrul serinic al trombinei. Formarea acestui complex este ireversibil - odată neutralizată activitatea trombinei nu mai este niciodată regăsită în plasmă.

Inhibiția progresivă



Inhibiție imediată



Fig.nr. 1. Modul de acțiune al AT III (după Poulain, 1990)

Cât privește acțiunea de cofactor a heparinei, se știe că heparina are acțiune anticoagulantă proprie, ea acționează ca un catalizator fixându-se prin resturile sale sulfat negative pe situsurile lizină ale antitrombinei III și modifică astfel conformația AT III, redând locul argininei mai accesibil locului serinic al trombinei.

Prin același principiu (formarea unui complex inactiv-reacție accelerată în prezența heparinei) antitrombina III acționează pe factorii căii intrinseci ai coagulării Xa, XIIa, XIa, IXa, pe plasmină în special kaliceină, pe complement și mai ales pe C1 esterază, pe agregarea plachetară indusă prin trombină.

Fig.nr.2 redă antitrombina III în coagulare.

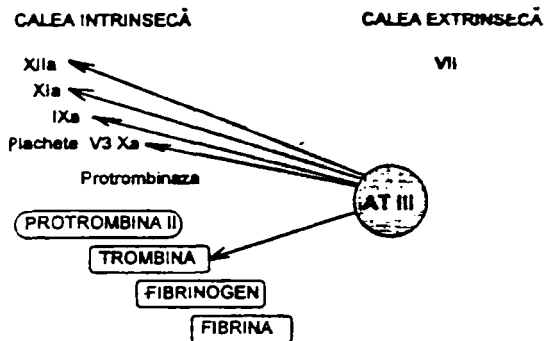


Fig.nr.2. Antitrombina III în coagulare

Antitrombina III nu acționează pe factorul VII activat al căii extrinseci.

Concentrația plasmatică a AT III după cum arată Berger și colab. 1991 la nou-născut, depinde de vârsta gestațională:

între 24-31 de săptămâni	0,24 g/L
între 32-35 de săptămâni	0,44 g/L
între 36-39 de săptămâni	0,51 g/L

La copilul la termen ea este de 0,56 g/L sau 50% din valorile de la adult, care sunt atinse între 3 și 6 luni și sunt cuprinse între 80-120% (0,30 g/L=100%). Un nivel sub 65% este patologic și există o zonă de incertitudine între 65-70% după cum descrie Conard și colab. 1994.

Este recunoscut astăzi un deficit congenital în AT III, după studiile lui Berger și colab. 1991, acest deficit fiind evaluat la 1/1500 în Norvegia și 1/2000 în SUA.

Transmiterea este autosomal dominantă, iar forma homozigotă este letală.

Aceiași autori arată că 2 până la 3% din pacienții adulți având tromboze venoase recidivante în aparență primitive sunt purtătorii unui deficit congenital în AT III. Se discută chiar și despre AT III deficitară calitativ prin defect în sinteza ei.

În tot cazul, autorii relatează că primele tromboze primitive la copil nu ar apărea înainte de 10 ani, dar apariția unui deficit de AT III la nou-născut din mamă ea însăși cu un deficit congenital, nu poate împiedica apariția unor manifestări trombotice explicate prin acest deficit.

Cu atât mai mult în prezența unui deficit congenital apariția unui deficit dobândit cum se întâlnește în coagulopatia de consum de exemplu, manifestările trombotice sunt cu atât mai frecvente și/sau evidente.

Deficite dobândite de AT III au fost descrise de Khaldi și colab. 1993 în coagularea intravasculară diseminată, sindroamele nefrotice și atingerile hepatice.

Dat fiind că nivelul AT III este scăzut în perioada neonatală la 50% din nivelul de la adult, este dificil de a afirma un deficit fie el și congenital în această perioadă (se normalizează la 3-6 luni). Numai determinări repetate pe parcursul evoluției și interpretate în dinamică în raport cu contextul clinic pot susține acest deficit în AT III și rolul lui în coagularea intravasculară diseminată.

Dat fiind că în septicemie o activare a coagulării fie ea numai biologic evidentă, duce la un consum al AT III necesar pentru neutralizarea trombinei formate intravascular, este lesne de înțeles dar în același timp greu de interpretat de ce nivelul AT III este scăzut într-un mare număr de cazuri cu acest diagnostic. Plecând de la faptul că 75% din activitatea antitrombinică este asigurată de AT III, iar 25% de α -2 macroglobulină, ne punem întrebarea, știind că la nou-născutul la termen și chiar prematur nivelul α -2 macroglobulinei este superior celui de la adult, dacă nu cumva aceasta poate fi cauza pentru care nu apar manifestările clinice ale deficitului AT III fie el și congenital.

În același timp există încă, în numeroase cazuri, tromboze a căror origine este total inexplicabilă. Se poate spera că o cunoaștere mai precisă a patologiei celulei endoteliale va permite să se facă progrese în acest domeniu. Și nu este mai puțin adevărat că posibilitatea de a obține un concentrat de AT III de la firmele producătoare când aceasta se impune este deja o realitate. Se cunosc astfel concentrate de AT III în flacoane de 20 ml conținând 500 ui AT III, doza de administrare fiind de 30-50 ui/kg la 2 zile interval.

Material și metodă

Studiul de față s-a făcut pe baza cazuisticii selecționate din secția de reanimare neonatală a spitalului St. Antoine, Lille, Franța și a cuprins analiza inhibitorului fiziologic principal al coagulării - ATIII, urmărindu-se rolul ei în coagulare și relația cu sindromul hemoragic clinic și/sau biologic din septicemia nou-născutului. Menționăm că studiul a interesat un număr de 20 nou-născuți cu septicemie comparativ cu un lot martor format din 20 nou-născuți sănătoși.

Specificăm de la început că posibilitățile de dozare în țară a acestui inhibitor sunt încă limitate iar din această cauză studii comparative în septicemie la nou-născut sunt relativ reduse.

Prin acest studiu am încercat să evidențiem modificările acestui parametru al coagulării în septicemie la copil, ținând totdeauna seama de variațiile legate de vârsta gestațională și postnatală.

Prelevările au fost realizate înainte de a se începe un tratament anticoagulant, știindu-se că heparina potențează acțiunea inhibitorilor fiziologici ai coagulării, scăzând nivelul lor plasmatic.

Bilanțul hemostazei standard pentru acest studiu a cuprins determinarea numărului de *plachete*, a nivelului de *protrombină* prin măsurarea timpului de recalcifiere a plasmei citratate în prezența tromboplastinei calcice, a *timpului de cefalină activat* prin măsurarea timpului de recalcifiere plasmatică în prezența cefalinei și a activatorului particular nesedimentabil, a nivelului *fibrinogenului* prin măsurarea coagulării unei plasme în prezența unui exces de trombină.

S-au luat în considerare ca parametri de fond biologic vârsta gestatională, greutatea și tipul de alimentație, iar stadiul clinico-evolutiv al septicemiei și sindromul hemoragic clinic manifest ca parametri clinico-biologici.

Dozaajul colorimetric al AT III folosind metoda Stachrom amidolitică pe substrat sintetic cromogen, a fost realizat datorită proprietății AT III de a acționa puternic și imediat în prezența heparinei (9).

Dozaajul presupune doi timpi:

- incubarea plasmei în prezența heparinei și a unei cantități fixe și în exces de trombină;

- măsurarea trombinei reziduale prin activitatea sa amidolitică pe substrat sintetic de cromogen CBS -34,37. Cantitatea de trombină utilizată este proporțională cu cantitatea de AT III prezentă în mediu. Valori uzuale: 80-120%.

Rezultate și discuții

Analizând valorile AT III la cei 20 nou-născuți cu septicemie luați în studiu, comparativ cu rezultatele obținute la lotul martor am observat următoarele:

- la toate cazurile luate în studiu valorile AT III au fost sub valorile considerate normale la adult 10-120%.

Același lucru s-a constatat însă și la lotul martor, ceea ce atestă constatărea lui Berger și colab. 1991 care susțin valorile de până la 50% din valoarea găsită la adult, la nou-născutul la termen și chiar mai scăzută la prematur.

De remarcat este însă faptul că dacă la lotul martor 90% din cazuri au avut un nivel de AT III apropiat de 65%, la lotul patologic valorile au fost mult mai mici sub 40% la 8 cazuri reprezentând 40%.

Tabelul nr. 1
Repartiția cazurilor după valorile AT III

	Valori ale AT III							
	<25%		<40%		>40%		>70%	
	LP	LM	LP	LM	LP	LM	LP	LM
Cazuri	2	0	6	2	9	13	4	5
%	10	-	30	10	45	65	20	25

Legenda: LM - lot martor; LP - lot patologic

Antitrombina III este precoce consumată în coagulările intravasculare diseminate astfel că dozarea sa a fost propusă ca test de diagnostic precoce (Coquet, 1990). În aceste cazuri trebuie să se asocieze după cum susțin autorii plasmă proaspătă congelată care va aduce AT III suplimentară.

Faptul că am găsit valori scăzute ale AT III la 8 cazuri, sub 40% din valoarea normală, comparativ cu lotul martor unde aceleași valori au apărut doar la 2 cazuri, ne îndreptățește oare să susținem consumul ei în procesul de coagulare? Am observat însă că cele mai mici valori le-am găsit la cele 3 cazuri care în final au decedat și care au prezentat și clinic semnele unei coagulări intravasculare diseminate. Menționăm că la aceste cazuri nu s-a făcut heparinoterapie care ar fi putut scădea și mai mult nivelul AT III. Nu putem susține dacă nu a fost vorba și de un deficit constituțional transmis ereditar întrucât nu s-au făcut determinări ascendenților, doar anamnestice nu s-au relatat episoade tromboembolice la părinți sau alți membri ai familiei.

Dar putem susține că determinările făcute pentru alți factori sau inhibitori ai coagulării, deși nu au relevat valori foarte marcante totuși cele câteva modificări observate în coagulare ne ajută la interpretarea în contextul clinic a posibilelor dereglări în hemostază.

Luând astfel în considerare valorile anormale sub 60% ale nivelului de protrombină, explorând factorii căii extrinseci (II, V, VII, X) ai complexului protrombinic, s-au înregistrat în 17 cazuri (85%).

Scăderea timpului de protrombină la un număr așa de mare de cazuri ilustrează și mai pregnant afectarea hemostazei.

Dar, afectarea hemostazei atestată de scăderea timpului de protrombină ridică întrebarea cât revine septicemiei și cât aparține deficitului de vitamină K, fiind vorba în afară de factorul V, de factorii dependenți, știindu-se de asemenea că laptele matern este mult mai sărac în vitamina K, iar nou-născuții noștri au fost în majoritate alimentați natural.

Timpul parțial de tromboplastină a fost găsit prelungit peste 45" la 12 cazuri, ceea ce reprezintă 60%. TPT testează factorii XII, XI, VIII, excluzând din secvența coagulării factorul VII și factorii trombocitari. Dacă există paralelism între scăderea nivelului AT III și modificările TP și TPT putem susține că cel puțin în cazurile de CIVD clinic și biologic declanșat manifestă, acest paralelism există. Gradul de interesare a modificărilor AT III în așa-zisele stări de hipercoagulabilitate premergătoare CIVD rămâne încă de studiat.

Analiza numărului de trombocite precum și a nivelului fibrinogenului, corelația cu nivelul AT III pe de o parte dar și cu stadiul evolutiv al septicemiei pe de altă parte, susținem că deși nu există o regulă, cel puțin la cele 2 cazuri decedate, acești trei parametri au fost paralel scăzuți. La unul din cazurile decedate nivelul AT III a fost scăzut, la fel și fibrinogenul pe

când numărul de trombocite a fost de 500000/mmc. Este vorba de o trombocitoză reacțională secundară sindromului inflamator, sau este hiperplachetoză caracteristică stărilor de hipercoagulabilitate premergătoare declanșării propriu-zise a CIVD, ceea ce rămâne încă de stabilit.

Faptul că un număr mare de cazuri a avut valori ale fibrinogenului în limite normale, poate fi explicat după cum arată Anne Marie Fischer, 1990, prin aceea că fibrinogenul fiind un reactant de fază acută crește în orice proces inflamator, cu atât mai mult într-o septicemie. Chiar dacă un proces de CIVD este declanșat, consumul fibrinogenului prin acțiunea trombinei va fi înlocuit de hiperproducția lui prin inflamație încât acesta poate fi găsit cu valori normale.

În concluzie, observațiile noastre permit să se sublinieze următoarele:

- fiind cunoscută tendința spre hipercoagulabilitate zisă paradoxală a nou-născutului scăderea AT III înclină balanța spre coagulare;
- frecvența cauzelor predispozante la care deseori se adaugă infecția sau chiar infecția conduce la activarea coagulării și deci la consumul inhibitorilor săi;
- dat fiind faptul că un nivel de cel puțin 50% al inhibitorilor fiziologici ai coagulării este necesar pentru a împiedica o coagulare patologică, scăderea unuia sau a tuturor acestor inhibitori în septicemie și la nou-născut, atestă activarea coagulării intravasculare și imposibilitatea blocării ei;
- valorile scăzute ale AT III sub 40% la 8 cazuri reprezentând 40%, arată participarea sa activă în procesul de coagulare la nou-născutul cu septicemie și totodată importanța de a determina acest indicator ori de câte ori activarea coagulării este suspectată;
- nu trebuie uitate nici deficiturile congenitale care, deși rare, pot apărea în practica medicală și printr-o anamneză amănunțită și dozarea AT III la părinți pot fi eliminate.

Bibliografie

1. *Arnoux D.*: Physiologie de l'hémostase. In Sebahoum G. (ed.) *Hématologie*, Flammarion Medicine-Sciences, Paris, 1990, 384-397;
2. *Bayer C. et al.*: Antithrombine III_Hémostase. Marseille 1987. Actualités et perspectives. Diagnostico Stago 1988, 725-728;
3. *Baumgardner J.D., Neumann D.*: Cytokines et sepsis graves. La Rev. du Prat. 1993, 5, 559-569;
4. *Berger C., Couilault G.*: Inhibiteurs plasmatiques de la coagulation en période neonatale. La médecine infantile. 1991, 6, 457-462;
5. *Fischer Anne Marie*: Etats d'hypercoagulabilité. In: *Hématologie pédiatrique* Flammarion Medicine Sciences, Paris, 1990, 265-277;

6 *Khalidi F. et al.*: Deficits des inhibiteurs physiologiques de la coagulation dans les thromboses veineuses des membres inferieurs de l'enfant. Ann. Pediatrie, Paris, 1993, 40, 348-352;

7 *Jude B., Cosson A.*: Hypercoagulabilité et activation pathologique de la coagulation. Encyclo.Med. et chir. Paris, Hematologie 13022 C20 1991, 10;

8 *Poulain G.*: L'antithrombine III. These de doctorat 1990, Lille France.

9.XXX: Hemostase, Diagnostica Stago, Ashière 1992.

STUDY ON ANTITHROMBIN III IN SEPTICAEMIA IN THE NEWBORN

Ana Popescu, G.Vutu, J.L.Demory

Antithrombin III is a glycoprotein synthesized in the liver and endothelial cells, and it is considered the most important physiological inhibitor of clotting

Antithrombin III has a progressive antithrombinic action, which becomes immediate and very strong in the presence of heparin.

This study is based on a casuistics selected from the department of neonatal reanimation of St. Antoine Hospital, Lille, France, and it includes the analysis of the main physiological inhibitor of AT III clotting, following up its role in coagulation and the relation with the clinical and/or biological haemorrhagic syndrome in the newborn infants with septicemia.

We should mention that the study refers to a number of 20 newborn infants suffering from septicemia in comparison with a group of controls.

The low values of AT III below 40% in 8 cases representing 40% show the active participation in the clotting process in the newborn with septicemia, and also the importance of the determination of this indicator whenever the activation of coagulation is suspected.

Sosit la reductie: 05.02.1996
