

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Ana Paula de Jesus Souza

**AVALIAÇÃO HEMOSTÁTICA DE JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO
DE CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS E DISPOSITIVOS
INTRAUTERINOS COM LIBERAÇÃO DE LEVONORGESTREL POR MEIO DO
TESTE DE GERAÇÃO DE TROMBINA E DÍMERO D**

Belo Horizonte
2024

Ana Paula de Jesus Souza

AVALIAÇÃO HEMOSTÁTICA DE JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS E DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS COM LIBERAÇÃO DE LEVONORGESTREL POR MEIO DO TESTE DE GERAÇÃO DE TROMBINA E DÍMERO D

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial á obtenção do grau de Mestra em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças
Carvalho - UFMG

Coorientadora: Dra. Rita Carolina Figueiredo
Duarte.

Belo Horizonte
2024

S729a Souza, Ana Paula de Jesus.
Avaliação hemostática de jovens mulheres usuárias ou não de contraceptivos orais combinados e dispositivos intrauterinos com liberação de levonorgestrel por meio do teste de geração de trombina e dímero D [recurso eletrônico] / Ana Paula Souza de Jesus. – 2024.
1 recurso eletrônico (88. : il.) : pdf

Orientadora: Maria das Graças Carvalho.
Coorientadora: Rita Carolina Figueiredo Duarte.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Trombofilia – Teses. 2. Coagulação sanguínea – Teses. 3. Trombina – Teses. 4. Anticoncepcionais orais – Teses. 5. Dispositivos intrauterinos – Teses. I. Carvalho, Maria das Graças. II. Duarte, Rita Carolina Figueiredo. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 616.15



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Avaliação hemostática de jovens mulheres usuárias ou não de contraceptivos orais combinados e dispositivos intrauterinos com liberação de levonorgestrel, por meio do Teste de Geração de Trombina"

ANA PAULA DE JESUS SOUZA

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia vinte de dois de maio de dois mil e vinte de quatro, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes professores:

Profa. Danyelle Romana Alves Rios
UFSJ

Profa. Ana Luiza Lunardi Rocha Baroni
UFMG

Profa. Rita Carolina Figueiredo Duarte
Bioclin

Profa. Maria das Graças Carvalho - Orientadora
UFMG

Belo Horizonte, 22 de maio de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Rita Carolina Figueiredo Duarte, Usuária Externa**, em 27/05/2024, às 11:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Danyelle Romana Alves Rios, Usuário Externo**, em 27/05/2024, às 13:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

Instituições Participantes

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais e o Laboratório Bioclin

Apoio Financeiro

CAPES, CNPq e FAPEMIG

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre ser o meu alicerce e ter me sustentado até aqui.

À minha orientadora, professora Maria das Graças Carvalho, por todo auxílio, paciência, ensinamentos e contribuição para que este projeto fosse concluído.

À minha coorientadora, Dr. Rita Carolina Figueiredo Duarte, por toda contribuição e paciência, e principalmente pelos ensinamentos do teste de geração de trombina.

Ao professor Raphael Wenceslau pela orientação e realização das análises estatísticas.

À minha mãe, que é a minha motivação diária, por todas as orações e incentivo desde a minha aprovação e por sempre acreditar em mim.

Ao Henrique, pela parceria, companheirismo e compreensão.

Aos meus irmãos, Anderson e Alessandra, por todo apoio e amor.

À todas as voluntárias que aceitaram participar desse estudo acreditando nos benefícios da ciência.

À Camilla Paraguai, pelo auxílio nas coletas e por todos os ensinamentos e paciência nesse período.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG pelo companheirismo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG pelos ensinamentos.

E por todos aqueles que, de alguma forma, fizeram parte desse estudo e foram peças importantes para que ele pudesse ser concluído.

RESUMO

Vários fatores genéticos e adquiridos podem favorecer um estado de hipercoagulabilidade que, não raro, evolui para um evento trombótico. Dentre os fatores adquiridos, o uso de contraceptivos orais combinados (COs) tem sido associado com ativação do sistema hemostático por possuírem hormônios em sua formulação. Entretanto, o uso do Dispositivo intra uterino (DIU) com liberação de levonorgestrel parece não apresentar um efeito protrombótico. Portanto, é importante a realização de novos estudos com essa abordagem, bem como a busca de novas ferramentas que auxiliem no diagnóstico de hipercoagulabilidade em diversas doenças e condições clínicas, e na avaliação de risco de tais indivíduos. Dessa forma, no presente estudo, foi empregada a técnica de geração de trombina (TGT) em um contexto tão importante da saúde da mulher representado pelos métodos de contracepção, seja uso de COs ou DIU. Embora bastante promissora, a TGT é ainda pouco conhecida e utilizada no Brasil. Diante do exposto e considerando-se a frequência quanto ao uso de COs e DIU por um grande contingente de mulheres em idade fértil, o presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil hemostático de mulheres jovens em uso ou não (controles) de COs ou DIU com liberação de levonorgestrel. O estudo incluiu 100 mulheres jovens, saudáveis, com idade entre 18 e 40 anos, maioria alunas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) distribuídas em 3 (três) subgrupos: usuárias de DIU (n=24) ou de COs (n=39) e, ainda, aquelas não usuárias de DIU ou COs (n=37, controles). Após aprovação do projeto no CEP/UFMG e consentimento pós-informado, amostras de sangue foram coletadas para as análises laboratoriais. As análises de TGT (método de CAT) foram realizadas utilizando fator tissular (FT) em baixa e média concentração e leitura em fluorímetro acoplado com o *software* Thrombinoscope. Parâmetros do TGT, tais como *Lagtime*, *Endogenous Thrombin Potential* (ETP), *Peak*, *time to peak* (ttP) e *Start tail*, e *Velocity Index* (VI) foram calculados usando o *software* acima. Foi observado um aumento na geração de trombina em mulheres em uso de COs em comparação àquelas que utilizavam DIU e controles. Esse achado pode ser explicado pelo possível aumento de procoagulantes e, ainda, redução dos componentes da anticoagulação natural (Proteína C - PC, Proteína S - PS, Antitrombina - AT e Inibidor da Via do Fator Tissular – TFPI). Nossos achados reforçam estudos anteriores quanto à ativação do sistema hemostático de jovens brasileiras, conseqüente ao uso

de COs. Paralelamente, os dados reafirmam a importância de se continuar buscando a devida padronização e validação do TGT, dada a sua grande potencialidade de aplicação para avaliar estados de hipercoagulabilidade, lacuna ainda existente em laboratórios clínicos.

Palavras-chave: hipercoagulabilidade; técnica de geração de trombina; contraceptivos orais; dispositivo intrauterino.

ABSTRACT

Several genetic and non-genetic factors can favor a hypercoagulable state that, not infrequently, evolves into a thrombotic event. Among non-genetic factors, the use of oral contraceptives (OCs) has been associated with activation of the hemostatic system because they have hormones in their formulation. No entanto, o uso do dispositivo intrauterino (DIU) com liberação de levonorgestrel não parece ter efeito pró-trombótico. Therefore, it is important to carry out new studies using this approach, as well as the search for new diagnostic tools that assist in the diagnosis of hypercoagulability in various diseases and clinical conditions, and in the risk assessment of such individuals. Therefore, in the present study, the thrombin generation technique (TGT) was used in such an important context of women's health represented by contraception methods, whether the use of OCs or an intrauterine device (IUD). Although very promising, TGT is still little known and used in Brazil. Given the above and considering the frequency of use of OCs and IUDs by a large contingent of women of childbearing age, the present study aimed to evaluate the hemostatic profile of young women using OCs or not (controls) or IUDs with levonorgestrel release. The study included 100 young, healthy women, aged between 18 and 40 years, most of them students at the Federal University of Minas Gerais (UFMG) distributed in 3 (three) subgroups: users of IUDs (n=24) or OCs (n= 39) and, also, those who did not use IUDs or OCs (n=37, controls). After approval of the project at CEP/UFMG and post-informed consent, blood samples were collected for laboratory analysis. TGT analyzes (CAT method) were performed using tissue factor (TF) in low and medium concentrations and reading on a fluorimeter coupled with the Thrombinoscope software. TGT parameters such as Lagtime, Endogenous Thrombin Potential (ETP), Peak, Time to Peak (ttP), Start Tail and Velocity Index were calculated using the above software. An increase in thrombin generation was observed in women using OCs compared to those using IUDs and controls. This finding can be explained by the possible increase in procoagulants and, also, a reduction in the components of natural anticoagulation (Protein C - PC, Protein S - PS, Antithrombin - AT and Inibiter of the Fator Tissular Via – TFPI). Our findings reinforce previous studies regarding the activation of the hemostatic system in young Brazilian women resulting from the use of OCs. At the same time, the data reaffirm the importance of continuing to seek the proper standardization and validation of the TGT, given its great potential for application to evaluate states of hypercoagulability, a gap that still exists in clinical laboratories.

Keyowrds: hypercoagulability; thrombin generation technique; oral contraceptives; intrauterine device.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Modelo clássico da coagulação.....	18
Figura 2 - Representação do modelo da coagulação baseado em superfícies celulares	19
Figura 3 – Representação esquemática do sistema fibrinolítico.....	21
Figura 4 - Lista de preparações hormonais disponíveis para contracepção nos Estados Unidos.....	28
Figura 5 - Parâmetros do Trombograma expressando a geração de trombina em nM em função do tempo em minutos	31
Tabela 1: Características gerais das participantes de acordo com os grupos Controle, DIU e CO	42
Tabela 2 – Perfil hemostático de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do TGT e seus parâmetros utilizando LTF, expressos como média e desvio padrão	44
Tabela 3 - Perfil hemostático de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do TGT e parâmetros utilizando PPP reagente, expressos como média e desvio padrão	45
Tabela 4 – Correlações entre parâmetros do TGT <i>versus</i> Dímero D	47
Tabela 4.1 - Correlações (e valor de p) entre parâmetros do TGT <i>versus</i> as variáveis as variáveis colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dímero D e IMC para o grupo CO	47

Tabela 4.2 - Correlações entre parâmetros do TGT *versus* as variáveis as variáveis colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dimero D e IMC para o grupo DIU48

Tabela 5 – Perfil hematológico (série vermelha e plaquetas) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do hemograma e seus parâmetros, expressos como média e desvio padrão.....49

Tabela 6 – Perfil hematológico (série branca) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do hemograma e seus parâmetros, expressos como média e desvio padrão 51

Tabela 7 – Índices derivados do hemograma de participantes do estudo, de acordo com os grupos Controle, DIU e CO, expressos como média e desvio padrão 52

Tabela 8 – Parâmetros do perfil bioquímico de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, expressos como média e desvio padrão 53

Tabela 9 – Parâmetros do perfil bioquímico (TGO e TGP) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, expressos como mediana (primeiro e terceiro quartis) 54

Tabela 10 - Perfil hemostático de mulheres em grupos não O e O e grupo, por meio do TGT e seus parâmetros utilizando LTF, expressos como média e desvio padrão 54

Tabela 11 – Análise de regressão linear múltipla associadas à hipercoagulabilidade em usuárias de COs, usando LTF-ETP como variável resposta, e os grupos Controle e DIU, além das variáveis IMC, Grupo Sanguíneo e Colesterol Total como variáveis explicativas 56

Tabela 12 – Análise de regressão múltipla associada à hipercoagulabilidade em usuárias de COs, DIU e CONTROLE, usando LTF-ETP como variável resposta e as variáveis Dímero D, HDL, LDL e Triglicérides como explicativas 56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADMA	Dimetilarginina assimétrica
AISI	<i>Aggregate index of Systemic Inflammation</i>
AISI	<i>Aggregate index of Systemic Inflammation</i>
AT	Antitrombina
AVE	Acidente vascular encefálico
CAT	<i>Calibrated Authomated Thrombogram</i>
CO	Contraceptivo Oral
COCs	Contraceptivos Oraís Combinados
COEP-UFM	Comissão de ética em pesquisa da UFMG
CT	Colesterol total
D-DI	Dímero D
DD	Dímero D
DIU	Dispositivo intrauterino
CAT	<i>Calibrated Authomated Thrombogram</i>
dNLR	<i>Derived NLR</i>
EE	Estrogênio etinilestradiol
EP	Embolia pulmonar
EPCR	Receptor endotelial de proteína C
ETP	<i>Endogen Thrombin Potential</i>
FAFAR	Faculdade de Farmácia
FII	Fator II
FIXa	Fator IX ativado
FT	Fator Tissular
FVa	Fator V ativado
FVII	Fator VII
FVIIa	Fator VII ativado
FVIII	Fator VIII
FvW.	Fator de von Willebrand
FX	Fator X
FXa	Fator X ativado
FXIa	Fator XI ativado
FXII	Fator XII
FXIIa	Fator XII ativado

FXIIIa	Fator XIII ativado
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
GT	Geração de Trombina
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IMC	Índice de massa corporal
LMR	Linfócitos/Monócitos
NLR	Neutrófilos/Linfócitos
PAI	Inibidores de ativadores de plasminogênio
PC	Proteína C
PCa	Proteína C ativada
PCR	Proteína C reativa
PLR	Plaquetas/Linfócitos
PPP	Plasma pobre em plaquetas
PRP	Plasma rico em plaquetas
PS	Proteína S
RFU	Unidade de fluorescência
SUA	Sangramento uterino anormal
t-PA	Ativador do plasminogênio tecidual
TAFI	Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TEV	Tromboembolismo venoso
TFPI	Inibidor da via do fator tecidual
TM	Trombomodulina
TP	Tempo de protrombina
TTPa	Tempo de tromboplastina ativada
TVP	Trombose venosa profunda
u-PA	Ativador do plasminogênio uroquinase
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	Cascata de coagulação.....	17
2.2	Anticoagulação natural.....	20
2.3	Fibrinólise.....	21
2.4	Contraceptivos Orais Combinados.....	23
2.5	Dispositivo Intrauterino com liberação de Levonorgestrel.....	27
2.6	Teste de Geração de Trombina (TGT) pelo método de CAT.....	29
3	JUSTIFICATIVA	33
4	OBJETIVOS.....	35
4.1	Objetivo geral.....	35
4.2	Objetivos Específicos.....	35
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.1	Tipo de estudo, seleção de participantes e aspectos éticos.....	35
5.2	Critérios de inclusão.....	36
5.3	Critérios de exclusão.....	37
5.4	Considerações éticas.....	37
5.5	Obtenção das amostras de sangue.....	37
5.6	Métodos.....	38
5.6.1	Teste de Geração de Trombina (TGT).....	38
5.6.2	Dímero D (DD)).....	39
5.6.3	Hemograma e índices derivados.....	39
5.6.4	Perfil bioquímico.....	40
5.6.5	Determinação do grupo sanguíneo do Sistema ABO.....	40
5.6.6	Determinação do índice de massa corporal (IMC).....	40
5.6.7	Variáveis do estudo.....	40
6	ANÁLISE ESTÁTISTICA.....	41
7	RESULTADOS.....	41
8	DISCUSSÃO.....	57
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	65
10	CONCLUSÕES.....	67
	REFERÊNCIAS	68
	ANEXOS.....	79

1. INTRODUÇÃO

A hemostasia é um processo fisiológico composto por uma sequência de eventos integrados que engloba vasos sanguíneos, plaquetas, fatores de coagulação, anticoagulantes naturais, proteínas da fibrinólise e seus inibidores, cujo objetivo é manter o sangue fluído no interior dos vasos e interromper sangramentos provenientes de lesão vascular (FRANCO, 2001; ZAGO et al., 2013). Segundo os mesmos autores, após uma lesão vascular ocorre a resposta primária da hemostasia envolvendo o endotélio vascular e plaquetas, culminando na formação do trombo plaquetário. Esse trombo, inicialmente transitório, é consolidado pela rede de fibrina que se forma resultante da ativação dos fatores de coagulação, constituindo a resposta secundária da hemostasia. Nessa fase ocorre a geração de trombina, enzima crucial no processo hemostático por apresentar várias funções, como a conversão de fibrinogênio em fibrina, ativação dos cofatores V e VIII, ativação de plaquetas e de células endoteliais, ativação do inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI), além do seu papel paradoxal na ativação da anticoagulação natural (FRANCO, 2001; NORRIS, 2003). Para impedir que haja excesso de trombina e, conseqüentemente, de fibrina, intervêm os anticoagulantes naturais incluindo as proteínas C e S, antitrombina e inibidor da via do fator tissular (TFPI). Finalmente, a resposta terciária da hemostasia compreende a fibrinólise, responsável pela dissolução gradual da rede de fibrina, restaurando o fluxo sanguíneo normal ao longo dos vasos. O menor fragmento da fibrina é chamado de dímero D e seus níveis plasmáticos quando elevados, sugere um estado de hipercoagulabilidade (JOHNSON et al., 2019).

Os contraceptivos hormonais orais (COs) são usados por mais de 151 milhões de mulheres globalmente [United Nations, 2019] e constituem uma parte fundamental da saúde moderna. Apesar de estar listado como medicamento essencial pela Organização Mundial da Saúde [WHO, 2023], uso de CO, particularmente o de contraceptivos orais combinados (COC), é um importante fator de risco para tromboembolismo venoso (TEV), que consiste em embolia pulmonar e trombose venosa profunda (TVP) que, por sua vez, está associado ao aumento do risco de mortalidade (De BASTOS et al., 2014). Contribuindo para embasar a relação entre uso de COs e hipercoagulabilidade, o estudo de Campesi et al., 2020, reportou que o

uso de COs afetou a função endotelial, reduzindo dimetilarginina assimétrica (ADMA) e arginina, potentes vasodilatadores.

Dentro do amplo universo de fatores que influenciam os mecanismos hemostáticos, podemos citar os contraceptivos orais combinados que são comumente associados ao aumento de fatores pró-coagulantes, cujo uso pode levar a um estado de hipercoagulabilidade, conforme revisado por van Vlijmen et al, 2016; Morimont et al.,2021 e outros. Esses medicamentos são compostos por estrogênios e progestagênios e, por ser confiável e reversível, tem sido amplamente prescrito pelos médicos como forma de prevenção de gravidez, mas também para tratamentos de doenças, como por exemplo a endometriose, controle de tensão pré-menstrual, sintomatologia de sangramento uterino anormal (SUA), redução dos riscos de desenvolvimento de câncer de ovário e endometrial (SALE, et al., 2020).

Embora estejam no mercado há mais de 50 anos, os contraceptivos orais combinados podem ter efeitos adversos devido ao tipo de progestagênios e a quantidade de estrogênios presentes na sua formulação. Esses, podem estimular a hipercoagulabilidade por meio dos aumentos dos níveis plasmáticos de fatores da coagulação, além da diminuição da atividade dos anticoagulantes naturais. A possibilidade de uma maior geração de trombina em função da diminuição dos componentes da anticoagulação natural merece ser investigada, já que resistência a proteína C ativada na ausência de fator V Leiden tem sido reportada e associada ao uso de contraceptivos orais (ROSING et al, 1997; CURVERS et al, 1999; ROSING et al, 1999).), o que sugere um estado de hipercoagulabilidade. Todas essas alterações podem favorecer o desencadeamento, por exemplo, de uma trombose venosa profunda (TVP), além do risco de acidente vascular encefálico (AVE) e infarto agudo do miocárdio (IAM) (ADUKAUSKIENE, et al., 2010). Conforme revisado por Morimont et al.,2021, segundo estimativa realizada na década de 90, o tromboembolismo venoso (TEV) já afetava 1 em cada 1000 pessoas anualmente. O uso de estrogênios sintéticos, segundo Baldwin et al. (2023), também pode aumentar o risco de TEV. a dose desse hormônio e a combinação do mesmo com o tipo de progestagênio, influenciam no grau do tromboembolismo. De um modo geral, foi descrito que a incidência do risco pode ser de 2 a 6 vezes maior para aquelas que utilizam a pílula combinada, comparada a uma população que não utiliza.

É sabido que mecanismos inflamatórios regulam positivamente os fatores pró-coagulantes, regulam negativamente os anticoagulantes naturais e inibem a atividade fibrinolítica, além de aumentar a reatividade plaquetária (ESMON, 2003). Por outro lado, o uso de COs pode provocar um estado inflamatório crônico, conforme reportado por Piltonen et al., 2012, os quais estudaram o efeito das vias alternativas de administração de anticoncepcionais combinados na secreção de andrógenos, inflamação crônica, tolerância à glicose e perfil lipídico. Esses autores reportaram que o uso de COs, transdérmicos e vaginais prejudica a tolerância à glicose e induz inflamação crônica. Outros investigadores (SHUFELT & BAIREY MERZ, 2009; GOURBILET et al., 2014; DRAGOMAN et al., 2018 ; PARK et al. 2022) demonstraram que o uso de COs altera a concentração de PCR-us, um biomarcador de doença inflamatória crônica e sugerem que o uso prolongado de COs é um fator de risco na patogênese de doenças inflamatórias, incluindo doenças cardiovasculares, tais como tromboembolismo arterial e venoso, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral isquêmico. Nesse contexto, é perfeitamente racional mais estudos com foco no uso de COs e possíveis distúrbios hemostáticos, já que a inflamação crônica pode potencializar o desencadeamento de tais distúrbios, favorecendo eventos trombóticos. Os COs orais pioram a sensibilidade à insulina e estão associados ao aumento dos níveis de marcadores inflamatórios circulantes, enquanto os efeitos metabólicos dos contraceptivos transdérmicos e vaginais foram relatados como mínimos.

Além dos efeitos na coagulação, o uso de contraceptivos orais combinados eleva os níveis circulantes de proteína C reativa (PCR) (KLUFT et al., 2002; van ROOIJEN et al., 2006; BUCHBINDER et al., 2008; CAUCI et al., 2008), e plaquetas (GEDFIE et al., 2022). Todavia, a PCR, um reagente de fase aguda, tem sido utilizado como um marcador sistêmico de inflamação e dano tecidual (PEPYS & HIRSCHFIELD, 2003), enquanto níveis elevados desta proteína têm sido utilizados como marcador de inflamação no cenário clínico (LI & FANG; BASSUK et al., 2004). É sabido também que processos inflamatórios podem provocar alterações nas células do sangue e, dessa forma, os parâmetros considerados de referência em um hemograma podem se apresentar alterados em função de tais processos. Nesse contexto, ressalta-se que índices obtidos combinando tais parâmetros têm sido utilizados como biomarcadores de inflamação e foram propostos como ferramentas para auxiliar no diagnóstico, progressão e estratificação de risco de doenças inflamatórias (PALIOGIANNIS et al.,

2015 and 2018; PUTZU et al., 2018; PENG et al., 2020; YANG et al., 2020; ZINELLU et al., 2020; FOIS et al., 2020). Recentemente, a relação entre neutrófilos e linfócitos (NLR), a NLR derivada (dNLR), a relação entre plaquetas e linfócitos (PLR), entre monócitos e linfócitos (MLR) e o índice de resposta à inflamação sistêmica (SIRI) demonstraram ser úteis para o diagnóstico e avaliação da gravidade de pacientes com COVID-19 (FOIS et al., 2020; PENG et al., 2020; YANG et al., 2020). Outros biomarcadores valendo-se das relações entre células do sangue periférico são o índice agregado de inflamação sistêmica (AISI) (ZINELLU et al., 2023; XIU et al. 2023) e o índice de imunoinflamação sistêmica (SII) (XIA et al., 2023; WANG et al., 2023). Não é do nosso conhecimento a avaliação de tais índices no contexto do presente estudo. Partindo do princípio que o uso de contraceptivos orais pode desencadear um processo inflamatório e que esse pode influenciar não apenas o sistema hemostático, mas também os parâmetros do hemograma, notadamente o número de leucócitos, pode ser bastante interessante avaliar tais índices no presente contexto, além dos marcadores hemostáticos.

Em um outro cenário de contracepção, aparece o dispositivo intrauterino (DIU). No estudo conduzido por van Vilet et al., 2009, realizado com mulheres que substituíram o contraceptivo oral pelo DIU com liberação de levonorgestrel, foi observada uma diminuição da resistência à proteína C ativada, indicando, de acordo com os autores, que este dispositivo intra-uterino não possuía efeito pró-trombótico. No entanto, tal afirmativa ainda carece de maiores estudos. De acordo com o estudo de Sharma et al., 2018, a inserção do DIU está associada com aumento de citocinas pro inflamatórias. Também já foram relatadas alterações na expressão de citocinas dentro do endométrio e em estudos transversais usuárias de DIU com levonorgestrel apresentaram níveis elevados de várias citocinas inflamatórias endocervicais (SHANMUGASUNDARAM et al., 2016), enquanto usuárias de DIU de cobre apresentaram níveis elevados de GM-CSF (Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos) no muco cervical (SHOBOKSHI et al., 2002).

Vários fatores genéticos e não genéticos podem favorecer um estado de hipercoagulabilidade que, não raro, evolui para um evento trombótico. De caráter genético, além do fator V Leiden (KUJOVICH, 2011), mutante da protrombina e outros, pode-se citar o grupo sanguíneo do sistema ABO. Alguns estudos têm mostrado que

o grupo sanguíneo ABO influencia na coagulação, mais especificamente nos níveis plasmáticos de fator de von Willebrand (FvW) (ALBANEZ et al., 2016). Assim, indivíduos do tipo sanguíneo O tem 25% a menos de FvW circulante no plasma do que aqueles do tipo não O, ou seja, A, B e AB. De acordo com Abdulrahman et al., 2020, foi observado um risco aumentado de TEV entre as mulheres sauditas que usavam CO de terceira geração em comparação com aquelas que usavam de segunda, bem como naquelas dos grupos sanguíneos não “O”. Partindo desse conhecimento, torna-se bastante oportuno e desejável realizar um estudo em nosso país, mesmo que com um tamanho amostral limitado, sobre o possível aumento do potencial hipercoagulável em mulheres usuárias de CO, com diferentes características étnicas, segundo os grupos sanguíneos “O” e “não O”. Contribuir para a identificação de opções de contracepção mais seguras para cada perfil, particularmente para aquelas já com maior risco de eventos trombóticos, é bastante motivador e necessário.

O Teste de Geração de Trombina (TGT), um ensaio global da coagulação, representa uma ferramenta com grande potencialidade de ser adotada na Clínica (HEMKER, 2015) por sua capacidade de medir proporcionalmente a tendência hemorrágica ou trombótica. Segundo Hemker, 2015, “quanto mais trombina menos sangramento, porém mais trombose; quanto menos trombina, mais sangramento, porém menos trombose”. Os testes de coagulação tradicionais não são capazes de medir essa proporcionalidade, pois atingem seu ponto final apenas com 5% de trombina formada (LECUT et al., 2015), enquanto o TGT é capaz de medir toda trombina formada a partir de uma determinada amostra de plasma pobre (PPP) ou rico em plaquetas (PRP). Ensaio global medem o equilíbrio entre as atividades pró e anticoagulantes, cujos resultados refletem o balanço hemostático de um indivíduo (DEPASSE et al., 2021). Partindo desse potencial do TGT, o presente estudo utilizou essa técnica inovadora e promissora para avaliar, em nosso meio, o impacto do uso de CO ou de DIU sobre o sistema hemostático de mulheres jovens, além do grupo sanguíneo e índices inflamatórios calculados a partir de parâmetros do hemograma.

Diante do contexto exposto, o presente estudo se propôs a responder as seguintes perguntas:

- Existe diferença significativa quanto à ativação da coagulação medida pelo TGT entre os grupos estudados, ou seja, mulheres jovens em uso de CO, ou DIU e controles? Em caso afirmativo, há associação com o grupo sanguíneo? E com os índices inflamatórios? Há concordância com o dímero D?
- Com base nos resultados obtidos, qual o perfil de mulheres que mais apresentou hipercoagulabilidade pelo TGT/Dímero D, característica crucial para o desenvolvimento de fenômenos trombóticos?

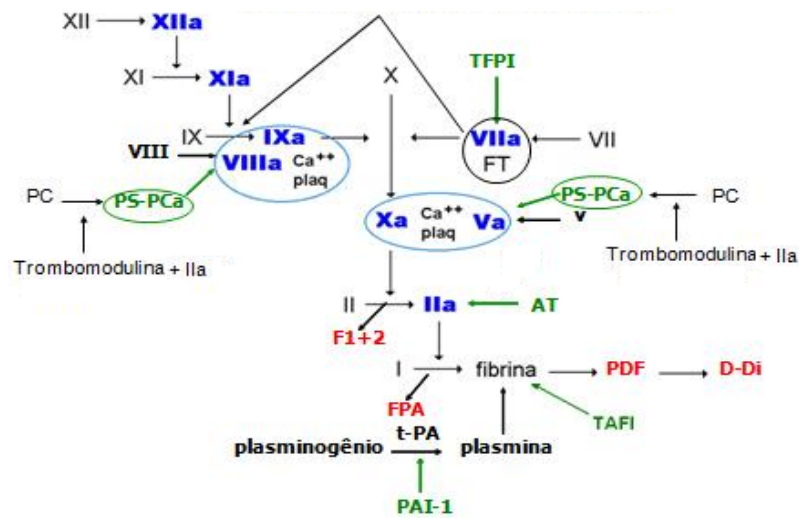
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cascata de coagulação: modelo tradicional e novo modelo baseado em superfícies celulares

Segundo o conhecimento tradicional, a ativação dos fatores de coagulação ocorre em cascata e envolve duas vias distintas, as chamadas via extrínseca e via intrínseca. Esse mecanismo tradicionalmente aceito foi proposto em 1964 por MacFarlane, Davie e Ratnoff (apud FRANCO, 2001). Cada uma das vias desempenha um papel distinto, e são ativadas em momentos diferentes culminando na ativação da via comum que conduz à formação de trombina e, finalmente, fibrina. A via extrínseca ocorre por meio da liberação de fator tecidual (FT) no local da lesão vascular, enquanto a intrínseca é desencadeada pelo contato do fator XII com o ambiente com cargas negativas existente no local da lesão (FRANCO, 2001; NORRIS, 2003; ZAGO et al., 2013). De uma forma mais detalhada, na via extrínseca, o fator VII (FVII) é ativado na presença do FT, e o complexo fator VII ativado/FT (FVIIa/FT) ativa o fator X (FX). Na via intrínseca, a exposição a cargas negativas do endotélio lesado leva à ativação do fator XII (ativação por contato). O FXIIa converte o fator XI (FXI) para sua forma ativa (FXIa), que ativa o fator IX (FIX) para FIXa. A trombina e íons cálcio ativam o fator VIII a FVIIIa, que juntamente com o FIXa ativam o FX a FXa. Neste momento, ambas as vias convergem para a via comum. O FXa juntamente com o fator V ativado (FVa), na presença de íons cálcio, ativam o fator II (protrombina) a FIIa (trombina), que é uma enzima crucial no processo hemostático, conforme já ressaltado acima. A trombina, por sua vez, transforma o fibrinogênio em fibrina (FRANCO, 2001; ZAGO, 2013).

O modelo clássico, ilustrado na **Figura 1**, apesar de limitações para explicar todos os fenômenos ligados à hemostasia *in vivo*, tem sido ainda utilizado como uma forma didática de explicação do que ocorre *in vitro* (REZENDE, 2010).

Figura 1: Modelo clássico da coagulação com as vias extrínseca (à direita), intrínseca (à esquerda) e comum da coagulação (ao centro) e fibrinólise.



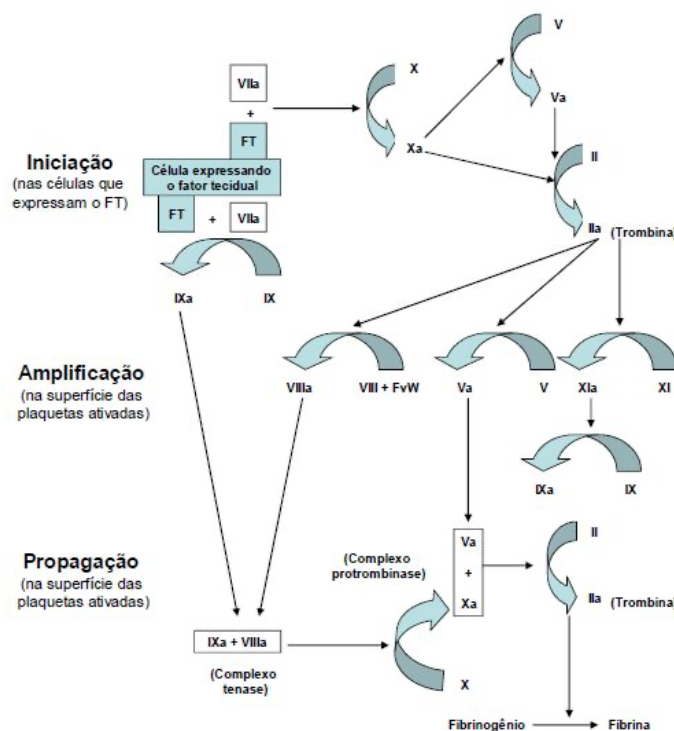
Anticoagulantes naturais (TFPI - Inibidor da via do fator tecidual, AT – Antitrombina, PS - Proteína S, PC - Proteína C, PCa – Proteína C ativada); marcadores de hipercoagulabilidade (F1+2 - Fragmento 1+2 da protrombina, FPA - Fibrinopeptídeo A, PDF - Produto de degradação da fibrina, D-Di - Dímero D); inibidores do sistema fibrinolítico (PAI-1 - Inibidor do ativador do plasminogênio 1, TAFI - Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina) Fonte:(Laboratório de Hematologia/ FAFAR – UFMG).

No novo modelo da coagulação (**Figura 2**) há a divisão em três fases: iniciação, amplificação e propagação/finalização. A fase de iniciação ocorre nas células que expressam o FT, onde a formação do complexo FVIIa/FT ativa os fatores IX e X. Quando ativado, o FXa forma o complexo protrombinase juntamente com o FVa (ativado pelo próprio Fxa, trombina ou outras proteases não coagulantes). Este complexo transforma pequenas quantidades de protrombina em trombina, necessárias na fase de amplificação (MONROE *et al*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2010). A fase de amplificação ocorre na superfície das plaquetas, onde a pequena quantidade de trombina previamente formada tem um papel ativador nas mesmas. Há a exposição de sítios de ligação para fatores da coagulação ativos além da ativação do fator V e fator XI. Ocorre também a dissociação do complexo FVIII/FvW, que

permite que o FvW participe da adesão e agregação plaquetária no local da lesão (MONROE *et al*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2010).

A fase de propagação também ocorre na superfície das plaquetas. O FXa proveniente da fase de iniciação se liga ao FVIIIa formando o complexo tenase (FXa/FVIIIa). Esse complexo, por sua vez, ativa mais fator X, que juntamente com o FVa forma o complexo protrombinase (FXa/FVa). Por fim, o complexo protrombinase formado catalisa a conversão da protrombina em trombina que resulta na clivagem do fibrinogênio em fibrina, formando o coágulo estável de fibrina ao se ligar ao FXIIIa (HOFFMAN, 2003; MONROE *et al*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2010).

Figura 2 – Representação do modelo da coagulação baseado em superfícies celulares.



Fonte: (HOFFMAN, 2003 e revisado por FERREIRA *et al.*, 2010)

2.2 Anticoagulação natural

O sistema da coagulação natural é essencial para o equilíbrio hemostático. O alcance desse equilíbrio ocorre entre a ativação de procoagulantes e sua adequada inibição. Distúrbios entre esse processo de ativação e inibição podem favorecer um desequilíbrio no sistema de coagulação ocasionando hemorragias, trombose ou

tromboembolismo (RODGERS *et al*, 2023). Em condições normais, os inibidores naturais apresentam atividade superior aos pró-coagulantes.

Como anticoagulantes naturais mais importantes são citados a antitrombina (AT), a proteína C (PC) e a proteína S (PS), além do inibidor da via do fator tissular (TFPI) (FRANCO, 2001; LIPE E ORNSTEIN, 2011), os quais agem de tal forma que o coágulo de fibrina formado fique limitado à área lesada, não havendo disseminação da ativação da coagulação. A antitrombina (AT), um inibidor de serinoproteases, inibe a trombina e os fatores Xa, IXa, XIa e XIIa. Desde a década de 80, a via anticoagulante da PC destacou-se como uma importante via regulatória do processo de coagulação. Em vias circulantes ela pode ser encontrada em três locais: endotélio vascular, no plasma e no espaço extravascular. Em alguns casos além do controle da coagulação, a antitrombina realiza atividades de estímulo para liberar moléculas que estão envolvidas na redução de processos inflamatórios. É sabido que a deficiência hereditária desse anticoagulante natural está diretamente ligada a causas de aumento do risco de desenvolvimento de trombofilia. Como resolução, a suplementação de AT, ajuda no equilíbrio hemostático e redução da inflamação em casos que há um aumento da coagulação, podendo provocar um estado de hipercoagulabilidade como em alguns tipos de cirurgias e gravidez (RODGERS *et al*, 2023).

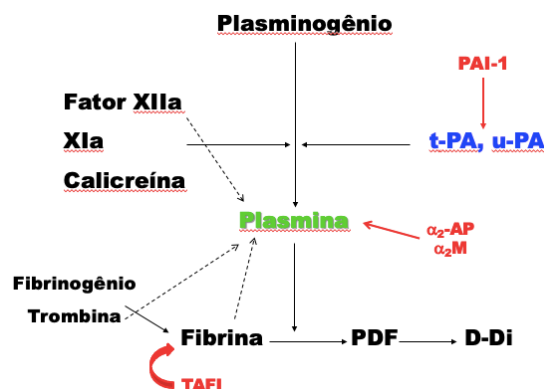
A via anticoagulante da antitrombina inicia quando a trombina se liga à trombosmodulina (TM) presente na superfície da célula endotelial intacta. O complexo ativa a PC quando essa se encontra ligada ao receptor endotelial de proteína C (EPCR). Quando a PC ativada (PCa) dissocia do EPCR, ocorre a interação da PCa com o co-fator PS, e esse complexo enzimático catalisa a inativação dos co-fatores Va e VIIIa, contrapondo-se à coagulação. Além da PS aumentar a inativação dos fatores de coagulação Va e VIIIa mediada pela PCa, estimula a inibição do fator Xa pelo TFPI (PERARAMELLI *et al.*, 2012). Esse anticoagulante natural apresenta dois domínios, um que inibe o complexo VIIa/FT e um segundo que inibe o fator Xa. Dessa forma, o TFPI forma o complexo quaternário FT/FVIIa/FXa/TFPI inativando estes fatores (DAHLBACK, 2005, FERREIRA *et al.*, 2010).

2.3 Fibrinólise

Após a reconstituição do vaso sanguíneo lesado é necessária à degradação do coágulo previamente formado, o que ocorre por meio da fibrinólise. Essa degradação é mediada pela plasmina que tem como precursor o plasminogênio. O plasminogênio circula no plasma na forma inativa e as substâncias que o ativam são o ativador do plasminogênio do tipo tecidual (t-PA) e o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (u-PA), além do Fator XIIa. Estes podem ser inativados pelos inibidores de ativadores de plasminogênio (PAI). A plasmina pode ser diretamente inativada pela α_2 -antiplasmina. O plasminogênio ativado gera plasmina que atua na degradação da rede de fibrina, finalizando o fenômeno da coagulação (FRANCO, 2001; RODRIGUES *et al.*, 2012). Todo esse processo deve ocorrer de forma equilibrada para a manutenção dos mecanismos hemostáticos, ou seja, a capacidade do sangue fluir livremente dentro dos vasos, incluindo a competência da fibrinólise.

A determinação dos níveis plasmáticos de Dímero D avalia a função do sistema fibrinolítico. Níveis aumentados indicam uma exacerbação da formação de fibrina caracterizando um quadro de hipercoagulabilidade (MATSUO *et al.*, 2000; JOHNSON *et al.*, 2019). O sistema fibrinolítico pode ficar comprometido em situações nas quais observa-se presença de níveis aumentados de PAI-1. Tal condição favorece a permanência do coágulo de fibrina e conseqüentemente o desenvolvimento de trombos (Figura 3) (URANO *et al.*, 2019)

Figura 3 – Representação esquemática do sistema fibrinolítico, seus ativadores (XIIa, t-PA e u-PA), inibidores (PAI-1 e alfa2-antiplasmina) e produtos de degradação (PDF e D-Di).



Fonte: Laboratório de Hematologia – FAFAR – UFMG

Entretanto, alguns fatores genéticos e ou adquiridos podem causar distúrbios no equilíbrio hemostático, ocasionando a formação de trombos ou de doenças hemorrágicas (DAHLBACK, 2005). Esses trombos ou coágulos podem ser formados de maneira esporádica ou como resposta a um processo inflamatório ou traumático, de causa hereditária ou não.

Em relação aos fatores genéticos predisponentes à trombofilia (tendência aumentada para coagular) podem ser citados principalmente a presença de fator V de Leiden, deficiências na anticoagulação natural (antitrombina, proteína C ou S), deficiência de glicoproteína rica em histidina e trombofilia relacionada à protrombina (mutante da protrombina), dentre outros menos importantes, conforme revisado por Dautaj et al., 2019. Segundo os mesmos autores, como causas adquiridas de trombofilia podem ser citados trombocitopenia induzida por heparina, síndrome do anticorpo antifosfolípide, neoplasias, uso de contraceptivos orais, obesidade, tabagismo e cirurgia, imobilização prolongada, traumas ou fraturas dentre outros. A TVP é uma doença que consiste na formação de coágulos dentro de veias profundas devido a um distúrbio na hemostasia normal. Ressalta-se que outros fatores adquiridos, tais como uso de medicamentos, cirurgias extensas e gravidez, dentre outros, podem também contribuir para aumentar o estado de hipercoagulabilidade e, portanto, a ocorrência de trombos (ARMSTRONG et al., 2014).

Diante do exposto acima, é perfeitamente compreensível que distúrbios nos mecanismos hemostáticos favoreçam a formação de trombos consequente a uma maior geração de trombina por razões diversas, inclusive na inflamação sistêmica, que constitui um potente estímulo pró-trombótico. É sabido que mecanismos inflamatórios regulam positivamente os fatores pró-coagulantes, regulam negativamente os anticoagulantes naturais e inibem a atividade fibrinolítica, além de aumentar a reatividade plaquetária (ESMON, 2003).

2.4 Contraceptivos orais combinados

Os contraceptivos orais (COs) são medicamentos que possuem hormônios sintéticos como progestagênio e estrogênio em sua composição de forma combinada. O mecanismo de ação consiste geralmente na inibição da ovulação e, além disso, pode promover alterações nas propriedades endometriais e muco cervicais. A inibição da

ovulação é consequente à inibição do eixo hipotálamo-hipófise-ovário pelo contraceptivo através de mecanismo de *feedback* negativo, o que suprime a secreção de gonadotrofinas hipofisárias que, por sua vez, previne maturação folicular, ovulação e, assim, previne a gravidez (EDELMAN et al., 2009).

A primeira pílula anticoncepcional surgiu na década de 1960 e o objetivo desses medicamentos é promover uma infertilidade que seja segura, eficaz e reversível e, atualmente, tem sido um dos métodos de contracepção com maior prescrição entre os médicos (WARE, 2016).

Desde quando surgiram, os contraceptivos orais foram associados ao risco de tromboembolismo venoso nas usuárias, devido ao fato desse método provocar alterações no sistema hemostático por meio de mudanças na coagulação, fibrinólise e anticoagulação, favorecendo eventos trombóticos (van VLIJMEN et al., 2016). A primeira vez que foi observada associação entre uso de COs e desenvolvimento de tromboembolismo venoso (TEV) foi em 1961, quando uma mulher de 40 anos que utilizava os COs para tratamento de endometriose desenvolveu TEV. Ela utilizava uma medicação que continha 150mg de mestranol e 10mg de noretrelid. A partir disso, estudos começaram a ser realizados para verificar como os contraceptivos orais poderiam interferir no equilíbrio hemostático, e como poderiam ser diminuídos esses riscos. Foi descoberto que aqueles que possuíam maior quantidade de estrogênio apresentavam maior probabilidade de desenvolvimento de TEV nas usuárias. Então, em 1969, foi designado que a dose de estrogênios nesses medicamentos deveria ser reduzida de 75mg ou mais para 50mg e, posteriormente, para 30 e 20mg (MORIMONT, et al, 2021).

Em contrapartida, há também estudos que compararam o risco trombótico entre mulheres que utilizavam COCs e as que não utilizavam, tendo sido concluído que há um aumento no risco em até 4 vezes. Muitos desses estudos observaram que há uma alteração hemostática provocada devido ao uso desse medicamento, o qual aumenta a atividade dos sistemas de coagulação e fibrinólise, desencadeando uma alta produção e degradação de fibrina. Por outro lado, foi observado que aquelas que interromperam o uso de COCs apresentaram uma redução dos efeitos em até três meses diminuindo o seu estado de hipercoagulabilidade igualando-se ao perfil hemostático daquelas que não utilizam o medicamento (FERREIRA et al., 2000).

É descrito que o primeiro ano de uso de contraceptivos orais combinados, principalmente nos primeiros meses, o risco de desenvolvimento de TEV é três vezes maior do que nos anos seguintes. Uma das explicações desse fato seria o período inicial de adaptação do organismo, por receber de forma exógena, uma quantidade de hormônio com reconhecida interferência na hemostasia. Quando se compara com aquelas mulheres que não utilizam nenhum método hormonal, o risco relativo no primeiro ano de uso seria entre 5.1 a 9.6. Entretanto, esse número diminuiria para um intervalo de 2.7 a 4.8 após 1 a 5 anos, com redução mais evidente ainda após 5 anos, ou seja, de 2.5 a 3.8 (HAN, et al., 2015).

Estudos como o de Khialani et al., 2020 descrevem que o risco de TEV pode aumentar de acordo com o hormônio utilizado nos contraceptivos orais. O tipo de progestagênio e a quantidade de estrogênio utilizados nesses medicamentos influenciam diretamente no aumento da hipercoagulabilidade.

Progestagênios como levonorgestrel, noretisterona e norgestimato apresentam menor risco, com entre cinco e sete eventos de TEV por ano em 10.000 mulheres, enquanto o risco para etonogestrel e norelgestro-min apresenta-se um pouco maior, com entre seis e doze eventos de TEV por ano em 10.000 mulheres. No entanto, o maior risco foi observado para drospirenona, gestodeno e desogestrel, provocando entre nove e 12 eventos de TEV por ano em 10.000 mulheres (SCHINK et al., 2020).

Uma revisão sistemática e meta-análise realizada por Dragoman et al., 2018, também reportou que COCs contendo levonorgestrel apresentaram o menor risco de TEV. COCs contendo acetato de ciproterona, desogestrel, dienogest, drospirenona ou gestodeno foram associados a um aumento de 1,5–2,0 vezes no risco de TEV em comparação com COCs contendo levonorgestrel. Para o dienogest, no entanto, os resultados foram baseados em apenas dois estudos, dos quais apenas um foi classificado como de boa qualidade. De particular interesse foram os COCs com um risco ainda incerto de TEV, ou seja, COCs contendo os progestagênios clormadinona e nomegestrol.

Os COCs são classificados em quatro gerações. Essas classes se baseiam na composição desses medicamentos que varia de acordo com o tipo de hormônio utilizado, estando relacionadas à sua chegada no mercado. Cada geração

desempenha uma variação hemostática diferente, que é dependente da sua formulação. Essa nomenclatura foi criada pela indústria farmacêutica a fim de melhorar as vendas, tendo sido assumido que a cada geração há uma melhoria tanto dos efeitos colaterais quanto da sua eficácia, diminuição da quantidade de estrogênio e progestagênios mais novos, resultando na redução do risco de desenvolvimento de TEV. Os COCs de primeira geração apresentam elevadas concentrações de estrogênio e um progestagênio dito “antigo” por terem sido os primeiros a serem lançados no mercado, como por exemplo, o acetato de ciproterona, e geralmente estes contem 50µg de estrogênio etinilestradiol. Os de segunda geração apresentam o mesmo tipo de progestagênio associados a concentrações reduzidas de estrogênio, que variam entre 20, 30 e 35µg e contém, por exemplo, o levonorgestrel. Quanto aos de terceira geração, tais COCs apresentam concentrações reduzidas de estrogênio associadas a novos progestagênios, por exemplo, desogestrel e gestodeno, os quais foram desenvolvidos com o objetivo de serem menos androgênicos do que as de segunda geração. E, por último, há os COCs de quarta geração que utilizam alguns tipos de progestagênio mais novos como a drospirenona, que tem uma atividade antiandrogênica e derivação da espironolactona (FERREIRA, et al.,2000).

O estrogênio é capaz de ativar a coagulação e o progestagênio modula a ativação da fibrinólise também realizada pelo estrogênio. Portanto, os COCs de primeira geração, com altas concentrações de estrogênio, apresentam uma maior ativação da coagulação quando comparado com os demais, mas também uma intensa ativação da fibrinólise na tentativa de compensar o equilíbrio hemostático. Os de segunda geração, com concentrações reduzidas de estrogênio ativam menos a coagulação e têm uma compensação melhor que os de terceira geração na ativação da fibrinólise por não terem sofrido alteração no progestagênio como os de terceira geração. No entanto, em todos os tipos, a ativação da fibrinólise não se equipara a ativação da coagulação e a usuária permanece em um estado hipercoagulável (LEVI et al.,1999; PFEIFER et al.,2017).

As formulações de COCs de terceira e quarta geração produzem uma menor hipercoagulabilidade e aumento da atividade fibrinolítica por possuírem doses menores de EE em suas composições (inferior a 50µg). É sabido que utilizar um COC

com uma menor quantidade de EE, produz uma diminuição significativa do desenvolvimento de TEV, entretanto, outros fatores também podem estar associados a essa diminuição, como estilo de vida. Alguns estudiosos acreditam que utilizar uma quantidade inferior a 20µg de EE na composição desses medicamentos diminuem os efeitos na coagulação provocada pelos COCs (FERREIRA, et al., 2000)

Levando em consideração os riscos envolvidos no uso de COCs, a escolha do método contraceptivo deve ser minuciosa e levar em consideração alguns fatores. O desenvolvimento de TEV é um fator que deve ser avaliado, não somente com características clínicas, mas também uma averiguação laboratorial, como análise genética da coagulação no que se refere aos fatores trombofílicos. Atualmente, o histórico familiar geralmente é levantado antes da prescrição de um COC. Embora seja importante um episódio de TEV na família, tal achado não implica diretamente na presença de uma trombofilia subjacente e, em contrapartida, uma mulher sem histórico na família, também não significa que não haverá desenvolvimento de TEV. A avaliação laboratorial se torna necessária, pois a TEV é uma patologia multifatorial, sendo que um ou mais fatores podem ajudar a aumentar a probabilidade de desencadeamento da doença, como defeitos genéticos e fatores ambientais (MORIMONT, et al., 2021).

Conforme revisado por Roach et al., 2015, os COCs estão associados a um aumento em muitos fatores de coagulação (por exemplo, fator VII, VIII, X), aumento da atividade dos inibidores fibrinolíticos Inibidor do Ativador do Plasminogênio 1 (PAI)-1 e 2 (PAI-2), além de uma resposta anticoagulante reduzida (resistência à proteína C ativada) (TCHAIKOVSKI, 2010). Tem sido reportado que a hipercoagulabilidade é um importante determinante da aterogênese e da aterosclerose (BORISSOFF, 2011), que por sua vez, precedem o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral isquêmico. Além disso, o uso de COCs tem sido associado ao aumento de triglicerídeos, colesterol de lipoproteína de baixa densidade e níveis de insulina, e uma tolerância reduzida à glicose (GODSLAND, 1990), que são todos fatores de risco bem conhecidos para doenças cardiovasculares arteriais.

Conforme reportado por Kofole et al., 2023, o uso de contraceptivos orais combinados foi associado a maior glicemia de jejum (+2,9%), pressão arterial média (+2,5%) e índice de massa corporal (+3,9%) comparado aos controles.

2.5 Dispositivo Intra Uterino com Liberação de Levonorgestrel

O dispositivo intra uterino é um contraceptivo em formato de T que pode ser encontrado em dois tipos principais: cobre ou hormonal. O DIU hormonal, devido à sua composição, tem sido bastante estudado e comparado aos COCs em relação aos seus riscos e benefícios. Este é inserido na cavidade uterina e libera diariamente uma dose de um hormônio do tipo progestagênio, conhecido como levonorgestrel. Embora seja um método hormonal, é sabido que ele não possui efeito prótrombotico porque a liberação de hormônio é pequena quando se compara a outros métodos hormonais, pois a quantidade de estrogênio e o tipo de progesterona estão diretamente ligados ao risco de desenvolvimento de TEV. Além disso, estudos realizados demonstraram que após a inserção do dispositivo no útero, não houve sensibilidade ou aumento da resistência à proteína C ativada, fortalecendo a ideia de que o seu uso não interfere no sistema hemostático (VLIEG, et al., 2010).

Por ser um método seguro em relação ao risco de TEV, o DIU tem sido amplamente indicado para aquelas mulheres que apresentaram um primeiro evento trombotico, ou que possuem fatores de risco genéticos, como substituição de outros métodos hormonais como o COCs (LAVASSEUR, et al., 2022).

Segundo Tepper et al. (2018), o uso de contraceptivos que possuíam apenas progestagênos na sua formulação, como DIU, implantes e até mesmos pílulas, também não demonstraram aumento no risco de eventos cardiovasculares. Outros fatores, tais como ser um método cuja eficácia pouco depende do usuário, o seu custo baixo, a acessibilidade, e pouco efeitos colaterais fazem do DIU uma boa opção de método contraceptivo.

Figura 4 - Lista de preparações hormonais disponíveis para contracepção nos Estados Unidos.

PREPARAÇÕES HORMONAIIS	ESTROGÊNIO (MCG) (NÚMEROS MÚLTIPLOS INDICAM FORMULAÇÕES MULTIFÁSICAS/ESTENDIDAS)	PROGESTERONA	EFICÁCIA *	RISCO DE TEV
Pílulas somente com progestina	Noretisterona /Drospirenona	Nenhum	93,0%	Sem risco aumentado
DIU com liberação de levonorgestrel	Levonorgestrel	Nenhum	99,7%	Sem risco aumentado
Implante	Etonogestrel	Nenhum	99,9%	Sem risco aumentado
Injetável	Medroxiprogesterona	Nenhum	96,0%	OR 2.2 (1.3 - 4.0) *
Anel Vaginal	Segestrone / Etonogestrel	Etinilestradiol (13mcg/dia) / Etinilestradiol (15mcg/dia)	93,0%	6,5 vezes (4,7-8,9) aumentado Risco em comparação com não usuários de hormônios (dados mistos em comparação com preparações oral)
Patch Transdérmico	Levonorgestrel / Norelgestromina	Etinilestradiol (30mcg/dia) / Etinilestradiol (30 mcg/dia)	93,0%	7,9 vezes (3,5-17,7) Aumento do risco em comparação com usuários não hormonais (dados mistos em comparação com preparações oral)
COC de 4ª Geração	Dienogeste	Valerato de Estradiol (3,2,2,1 mg)	93,0%	Risco semelhante/melhorado como o de 2ª geração
COC de 2ª Geração	Levonorgestrel	Etinilestradiol (20,10) Etinilestradiol (20) Etinilestradiol (30) Etinilestradiol (20, 25, 30,10) Etinilestradiol (30, 10)	93,0%	OR 2,38 (2,18 - 2,58)
COC de 1ª Geração	Acetado Noretindrona Noretindrona Noretisterona Diacetato de Etanodiol Norgestrel Medroxiprogesterona	Etinilestradiol (10,10) ; Etinilestradiol (20) Etinilestradiol (30); Etinilestradiol (20, 30,35) - Etinilestradiol (35) Etinilestradiol (35) ; Etinilestradiol (50) Etinilestradiol (30) ; Etinilestradiol (50) -	93,0%	Sem dados comparando o 1º e 2º geração. Recomendar a dose mais baixa de estrogênio para menor risco de TEV
COC de 3ª Geração	Norgestimato Desogestrel Gestodeno	Etinilestradiol (35) Etinilestradiol (20,0,10) ; Etinilestradiol (30) -	93,0%	OR 2,53 (2,17 - 2,96) ** OR 3,64 (3,00 - 4,43) ** OR 4,28 (3,66 - 5,01) **
COC de 4ª Geração	Drospirenona	Etinilestradiol (20) Etinilestradiol (30) Etinilestradiol (14,2 mg)	93,0%	Risco semelhante ao COC de 3ª geração

MENOR RISCO



MAIOR RISCO

As fórmulas são agrupadas aproximadamente em ordem de risco crescente de TEV com base nas melhores evidências disponíveis. Observe as exceções individuais em cada uma das diferentes gerações de COC. *Eficácia medida pela prevenção de gravidez indesejada no primeiro ano de uso típico. †Contra-indicado em aqueles com TVP prévia, embora isso seja baseado em dados sobre preparações orais de etonogestrel. **Não disponível nos Estados Unidos para contracepção, mas está incluído nesta tabela por uma questão de conclusão. **Todas as formulações com dose de etinilestradiol de >50 µg são rotuladas como de alto risco de TEV. Abreviaturas: COC, contracepção oral combinada; DIU, dispositivo intrauterino de levonorgestrel; OR, razão de chances; TEV, tromboembolismo venoso.

Fonte: (TRADUZIDA E ADAPTADA DE LAVASSEUR et al., 2022)

2.5 Teste de Geração de Trombina (TGT) pelo método de CAT (*Calibrated Automated Thrombogram*)

O teste de geração de trombina (GT) foi introduzido por Macfarlane & Biggs em 1953, todavia, nos últimos anos vem sendo aperfeiçoado continuamente, utilizado sob várias condições experimentais e com aplicações de grande importância em pesquisa e, potencialmente, em clínica (HEMKER et al, 2003; LECUT et al.2015; DEPASSE et al.,2021; BINDER et al., 2021).

O desenvolvimento do método comercial, semi-automatizado, denominado CAT (*Calibrated Automated Thrombogram*) possibilitou a medida do potencial de GT no plasma, ao longo de 60 minutos, após adição de FT, fosfolípidos, cálcio e substrato

fluorogênico, com conseqüente ativação da coagulação. A quantificação da trombina formada pode ser obtida por meio desse método em plasma pobre ou rico em plaquetas, monitorando a clivagem de um substrato fluorogênico pela trombina em comparação à atividade de uma trombina com concentração conhecida, sobre este substrato, em paralelo (HEMKER et al., 2002; HEMKER et al., 2003).

Em amostras de plasma pobre em plaquetas (PPP), o método de CAT é sensível para detectar todas as deficiências de fatores da coagulação (exceto FXIII) e o efeito de todos os anticoagulantes tais como antagonistas da vitamina K, heparinóides e inibidores diretos do FXa e da trombina. Já com amostras de plasma rico em plaquetas (PRP), o referido método é sensível em casos de doença de von Willebrand bem como é capaz de mostrar o efeito de inibidores plaquetários tais como aspirina, clopidogrel e abciximab. Em adição, na presença de PCa (proteína C ativada) ou trombomodulina, a geração de trombina pode ser inibida refletindo distúrbios congênitos ou adquiridos do sistema da PCa/PS (DIELIS et al., 2008, HEMKER et al., 2003; TEN CATE, 2012).

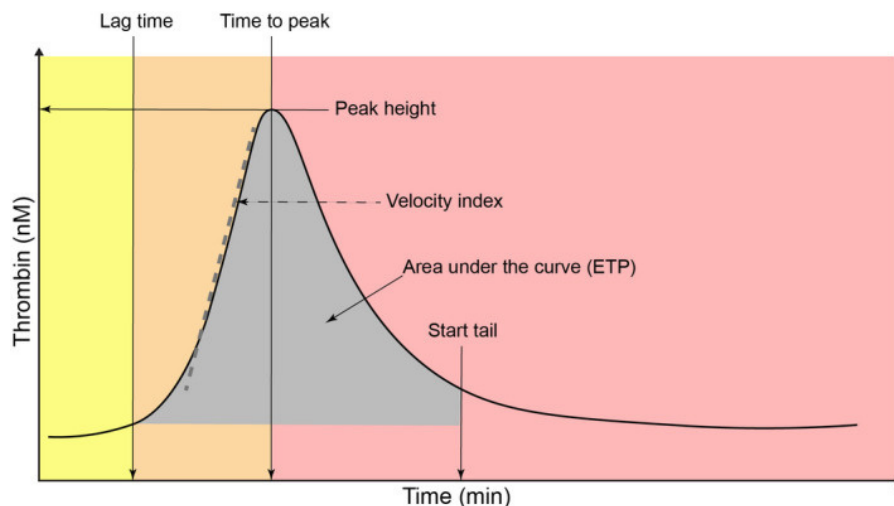
De acordo com o método de CAT, para cada amostra de plasma de um indivíduo são necessárias duas medições de fluorescência do mesmo PPP. Em um *well*, o FT em alta ou baixa concentração e fosfolípidos são adicionados ao plasma para iniciar a coagulação e induzir a formação de trombina. Em outro *well*, um calibrador, que possui uma quantidade conhecida de trombina, é adicionado ao PPP, sem ativar a coagulação. O calibrador é formado pela ligação da trombina com a α 2-macroglobulina. A ligação da trombina a essa proteína impede a inibição da mesma por proteases plasmáticas. Em seguida, o FLUCA (uma mistura de substrato fluorogênico com o cálcio) é dispensado nos *wells* e o desenvolvimento da fluorescência é registrado por um fluorímetro, proporcional à quantidade de trombina da amostra analisada (*Fluorocan Ascent, Thermo Laboratories*). Após a leitura, o *software Thrombinoscope BV* é utilizado para converter a unidade de fluorescência (RFU) em concentração de trombina (nM) e calcular os parâmetros do ensaio de geração de trombina (CASTOLDI & ROSING, 2011).

O uso do *software Thrombinoscope* para o teste de geração de trombina permite a obtenção de vários parâmetros, tais como o tempo de latência (*Lagtime*), potencial endógeno de trombina (ETP- *Endogen Thrombin Potential*), pico (Peak), tempo para

atingir o pico (tt *Peak*), além do início da cauda (Start tail). sendo que o ETP e *Peak* correlacionam melhor com a clínica (BERNTORP & SALVAGNO, 2008).

Em outras palavras, a curva de geração de trombina (**Figura 5**) é caracterizada por uma fase de iniciação (*Lagtime*), seguida pela formação de grande quantidade de trombina (propagação) que culmina com um pico de concentração de trombina (*Peak*) e, por fim, inibição da mesma por anticoagulantes naturais (CASTOLDI & ROSING, 2011). A área sob a curva, denominada ETP, representa a quantidade total de trombina formada ao longo de 60 minutos (HEMKER et al., 2003). Sabe-se que a formação do coágulo nos testes convencionais (Tempo de protrombina e Tempo de tromboplastina parcial ativada, e outros) ocorre no final do *Lagtime*, portanto, a duração desse parâmetro corresponde ao tempo de coagulação (HEMKER et al., 2006). A partir da análise desses parâmetros em uma curva de GT pode-se inferir que um *lagtime* prolongado, e ETP e *Peak* diminuídos, indicam um estado de hipocoagulabilidade, caracterizado por uma menor formação de trombina. Já o aumento na geração de trombina é caracterizado por uma diminuição no *lagtime* e aumento dos valores de ETP e *peak* (BERNTORP & SALVAGNO, 2008).

Figura 5 – Parâmetros da curva de Geração de Trombina pelo método de CAT.



Fonte: (Depasse et al., 2021)

De acordo com Hemker et al (2003), uma baixa quantidade de trombina produzida resulta em risco hemorrágico, enquanto uma alta produção resulta em risco trombótico. A trombina também apresenta várias outras ações biológicas relevantes em processos tais como inflamação, angiogênese e proliferação celular. Dessa forma,

a trombina apresenta uma grande importância clínica já que o comprometimento na sua formação a partir da conversão da protrombina em trombina, predispõe a eventos hemorrágicos, enquanto sua produção excessiva favorece o desenvolvimento de eventos tromboembólicos. Dada a sua importância no sistema hemostático, torna-se mandatório o uso de metodologia laboratorial capaz de medir com precisão os níveis desta enzima no plasma. A primeira tentativa de desenvolvimento de um teste para avaliar a geração de trombina data de 1953 (MACFARLANE & BIGGS, 1953; PITNEY & DACIE, 1953), porém envolvia um procedimento extremamente laborioso. Mais esforços foram despendidos ao longo de várias décadas sucessivas até que Hemker e cols. descreveram o método de CAT (*Calibrated Automated Thrombogram*) (HEMKER et al., 2002; 2003; 2006), método esse que possibilita a quantificação da trombina no plasma total, em registro contínuo, usando substrato fluorogênico de baixa afinidade, porém específico para trombina, e um calibrador contendo o complexo trombina-alfa2 macroglobulina de concentração conhecida. Trata-se de um método que avalia o sistema hemostático de forma global e não segmentada como o fazem os testes convencionais, como o Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPa), dosagens de fibrinogênio, FVIII e outros. Enquanto os métodos convencionais necessitam apenas de 5% de trombina para apresentarem seu ponto final, o TGT mede toda a dinâmica de formação da coagulação do sangue e expressa a quantidade de trombina formada durante este processo, ou seja, o resultado do equilíbrio entre as forças procoagulantes e anticoagulantes (DEPASSE et al., 2021). Diante de tais vantagens, o TGT tem sido largamente utilizado em pesquisa e apresenta alta potencialidade de uso em laboratórios clínicos. Ressalta-se que o TGT apresenta aplicações clínicas e diagnósticas em distúrbios hemorrágicos, tais como hemofilia, doença de von Willebrand; trombóticos, tais como risco de venosa profunda, predição de risco de recorrência de tromboembolismo venoso, trombose, síndrome antifosfolipídica, aterotrombose e acidente vascular cerebral, além de recorrência de câncer e coagulopatias em doenças infecciosas, terapia antitrombótica, dentre outros (BINDER et. 2021).

Conforme Hemker et al., 2003, Castoldi & Rosing, 2011 e, posteriormente revisado por Lecut et al., 2015 e Depasse et al., 2021, o TGT pelo método de CAT avalia a dualidade da função da trombina, ou seja, o balanço entre forças antagônicas. Em suma, consiste em um teste que mede a geração de trombina em um plasma pobre

em plaquetas (PPP) ou rico (PRP), após adição de pequenas quantidades de fator tissular (FT) e fosfolípidos. A geração de trombina (GT) é iniciada pela adição de substrato fluorogênico (+íons cálcio) específico e de baixa afinidade para trombina, sendo este substrato clivado pela trombina formada, liberando o fluoróforo AMC. A mudança de fluorescência é lida em um fluorímetro (Fluoroskan Ascent Reader-Thermo Laboratories) e convertida para concentrações equivalentes de trombina usando uma curva de referência. Em outras palavras, este método monitora a clivagem de um substrato fluorogênico e compara com a atividade de uma trombina de concentração conhecida (trombina ligada à α 2-macroglobulina, a qual não é clivada por proteases plasmáticas), medida em uma amostra de PPP não acrescida de FT. A concentração de trombina, em nM, bem como o gráfico de geração de trombina (trombograma) e os parâmetros relacionados, são determinados pela comparação entre a fluorescência no poço teste e a fluorescência no poço do calibrador, por meio de um *software* específico denominado Thrombinoscope BV.

O parâmetro *Lagtime*, expresso em minutos, é definido como o tempo necessário para que a concentração de trombina atinja 1/6 da concentração máxima de trombina, e guarda uma boa correlação com o tempo de coagulação do plasma, enquanto o *Time to Peak*, também expresso em minutos, corresponde ao tempo até que o máximo de trombina é formado. A altura do pico (*Peak Height*) ou simplesmente *Peak* correlaciona com o máximo de geração de trombina e é expresso em nM. O ETP (*Endogen Thrombin Potential*), expresso em nM/minuto, corresponde à área sob a curva e representa a quantidade total de trombina formada resultante do equilíbrio entre forças procoagulantes e anticoagulantes, o qual geralmente é considerado o parâmetro mais preditivo do risco trombótico/hemorrágico (HEMKER et al., 2003; CASTOLDI & ROSING, 2011; LECUT et al., 2015; DEPASSE et al., 2021). Finalmente, o *Start Tail*, expresso em minutos, indica o final da geração de trombina após ação de seus inibidores, enquanto o *Velocity Index* corresponde à inclinação da curva de geração de trombina entre o *Lagtime* e o *Time to Peak* (DEPASSE et al., 2021).

Como um método bastante versátil, o TGT pode ser realizado sob diferentes condições experimentais dependendo do propósito. Assim o TGT pode ser realizado com adição de proteína C ativada (PCa) para identificar indivíduos em risco de eventos trombóticos devido a fatores adquiridos ou genéticos que afetam a via da PC,

conferindo resistência à PCa (CURVERS et al., 1999; TCHAIKOVSKI et al., 2007; MARCHETTI et al., 2008). Analogamente, o TGT pode ser também adicionado de trombomodulina (TM) para investigação também de distúrbios do mecanismo de anticoagulação natural mediado pela PC (POTZE et al., 2015).

3 JUSTIFICATIVA

É essencial o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas que auxiliem no diagnóstico de hipercoagulabilidade em diversas condições e situações clínicas, e na avaliação de risco de tais indivíduos. Dessa forma, julgamos importante o uso do TGT, uma técnica bastante promissora, porém pouco conhecida e utilizada no Brasil, em um contexto tão importante da saúde da mulher representado pelos métodos de contracepção, seja uso de contraceptivos orais ou DIU.

Além disso, há uma escassez de estudos na literatura com a abordagem da presente investigação, o que vem nos motivar para a obtenção de maiores conhecimentos nessa área em relação à população brasileira. Buscando suprir a carência desses dados na literatura científica e, considerando que nos últimos anos, houve um grande interesse na aplicação do TGT na área de pesquisa em países desenvolvidos, o presente estudo propõe avaliar, dentre outros aspectos, o desempenho do TGT e dímero D em amostras de mulheres jovens em uso ou não de contraceptivos orais ou dispositivo intrauterino com liberação de hormônio.

Com o presente estudo buscamos responder algumas questões, tais como:

- Mulheres jovens em uso de hormônio (CO ou DIU) apresentam ativação da coagulação determinada pelo teste de geração de trombina? Diferem entre si com base no tipo de método contraceptivo utilizado e em relação ao subgrupo de mulheres não em uso de hormônio?
- As alterações no mecanismo hemostático incluem valores aumentados de Dímero D? Ou seja, a fibrinólise está aumentada? Compensa a ativação da coagulação medida pelo TGT?
- Há alterações nos parâmetros do hemograma e índices derivados do mesmo?
- O perfil hematológico e o grupo sanguíneo podem influenciar o perfil hemostático avaliado pelo TGT?

- Há alguma associação de algum grupo sanguíneo específico (Classificação ABO) e maior geração de trombina?
- Finalmente, com os dados obtidos seria possível criar um modelo de predição de ativação da coagulação (hipercoagulabilidade) utilizando apenas parâmetros laboratoriais rotineiros, capaz de identificar este estado em mulheres jovens em uso de CO ou DIU com liberação de hormônio?

Finalmente não é do nosso conhecimento estudos em que as alterações do sistema hemostático provocados pelo uso de hormônio (COs ou DIU), tenham sido associadas aos parâmetros do hemograma (e seus índices derivados) e ao grupo sanguíneo, o que vem conferir ineditismo ao presente estudo.

Como mencionado anteriormente, o TGT se presta para investigação de possíveis distúrbios hemostáticos em plasma de indivíduos suspeitos. Neste cenário, o estudo em pauta tem como objetivo aplicar o TGT no contexto da hipercoagulabilidade, valendo-se de amostras de mulheres jovens em uso ou não (controles) de hormônios (COs ou DIU). Em outras palavras, espera-se que o TGT, técnica capaz de avaliar o mecanismo hemostático como um todo, seja adequada e útil para investigar nestas jovens mulheres alterações hemostáticas que reflitam possíveis disfunções endoteliais, ativação de plaquetas e de fatores de coagulação, bem como defeitos na anticoagulação natural provocados por fatores adquiridos, como o uso de hormônios. Considerando-se a frequência quanto ao uso de COs e DIU por um grande contingente de mulheres em idade fértil, torna-se extremamente necessária a ampliação dos conhecimentos (notadamente na população brasileira), a respeito dos mecanismos que envolvem os distúrbios hemostáticos que favorecem eventos trombóticos decorrentes do uso de hormônios. Finalmente, muitos fatores devem ser considerados e discutidos com as mulheres antes do início de um método contraceptivo e o risco de tromboembolismo venoso (TEV) é um deles.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar o perfil hemostático de mulheres jovens em uso ou não (controles) de contraceptivos orais (CO) ou dispositivo intrauterino (DIU), com liberação de levonorgestrel, por meio da medida da geração de trombina, e possível associação com parâmetros bioquímicos, do hemograma e índices derivados de seus parâmetros, além do grupo sanguíneo ABO.

4.2 Objetivos Específicos

Em amostras de sangue de mulheres jovens em uso ou não (controles) de contraceptivos orais ou dispositivo intrauterino (DIU):

- a) Realizar os ensaios de geração de trombina e comparar os resultados entre os grupos;
- b) Medir os níveis plasmáticos de dímero D e comparar os resultados entre os grupos;
- c) Comparar todos os dados obtidos com o tipo de método contraceptivo;
- d) Correlacionar os dados dos marcadores hemostáticos com dados de exames de rotina como hemograma e índices derivados deste, além de dados bioquímicos e grupo sanguíneo (Classificação ABO);
- e) Investigar se há associação de variáveis com a ativação da cascata de coagulação.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Tipo de estudo, seleção de participantes e aspectos éticos

O delineamento deste estudo foi do tipo transversal, observacional e analítico, tendo sido a amostra de conveniência. Para o seu desenvolvimento foi recrutado durante 4 meses um total de 100 mulheres jovens, na faixa de 18 a 40 anos, as quais foram distribuídas em três subgrupos, a saber: a) 39 mulheres em uso de COs (casos) nos últimos seis meses, b) 24 mulheres em uso de DIU com liberação de levonorgestrel (casos) nos últimos seis meses e c) 37 mulheres não em uso de COs ou DIU (controles), nos últimos seis meses selecionadas na UFMG e na comunidade em geral. Os COs utilizados pelas participantes incluíram aqueles de segunda geração

(n=2), terceira geração (n=10, quarta geração (n=24) e somente progestagênio (n=3). Em relação ao DIU, as participantes utilizavam dois tipos: o Mirena (n=16), que possui um pouco mais de hormônio quando comparado ao Kyleena (n=8), o qual por outro lado é um dispositivo menor, porém com igual eficácia. O contato com as participantes para recrutamento foi realizado por meio de divulgação do estudo em cartazes e, ainda, por meio de *email* dirigido a todas as alunas da UFMG regularmente matriculadas. Dados de uso de contraceptivo oral ou DIU (ou nenhum método contraceptivo) foram obtidos das participantes por autorelato. Após concordarem em participar do estudo e responderem questionário específico, contendo dados demográficos e clínicos, as participantes foram avaliadas e selecionadas quanto aos critérios de inclusão e exclusão.

5.2 Critérios de inclusão

Para inclusão no estudo, as participantes do subgrupo de “Casos” , com faixa etária entre 18 e 40 anos (principal intervalo de idade reprodutiva da mulher), declararam que não possuíam doenças pré existentes que poderiam alterar a hemostasia ou interferir de qualquer forma nos dados do estudo (auto relato) e que estavam em uso de COs ou DIU com liberação de levonorgestrel nos últimos seis meses. Esse período foi escolhido pois de acordo com a literatura, a maior alteração hemostática consequente ao uso de métodos contraceptivos hormonais ocorre nos primeiros meses. Aquelas que não estavam em uso de COs ou DIU, também nos últimos seis meses, integraram o subgrupo “Controle”. Todas as participantes preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 1) e um questionário específico (ficha clínica) (ANEXO 2).

5.3 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo as jovens com idade inferior a 18 anos e superior a 40 anos, aquelas com menos de seis meses em uso de COs ou DIU, grávidas, lactantes, ou com doenças ou condições que possam alterar os parâmetros hemostáticos (doenças crônicas como diabetes mellitus, hipertensão, doenças renal, cardíaca e hepática, infecções ativas tais como HIV, hepatite e outras), ou ainda uso de

medicamentos que interferem de alguma forma no perfil hemostático, tais como antiagregantes, anticoagulantes e antiinflamatórios. A exclusão das doenças e ou condições, além de uso de medicamentos acima citados foi realizada por autorrelato. Portadoras com história pessoal ou familiar de fatores trombofílicos (tais como fator V Leiden e mutante da protrombina) também foram excluídas. Jovens que não preencherem o termo de consentimento livre e esclarecido e/ou o questionário também foram excluídas do estudo.

5.4 Considerações éticas

O presente projeto foi encaminhado para a Comissão de Ética em Pesquisa da UFMG (COEP-UFMG) e, após análise criteriosa, o mesmo foi aprovado por este Comitê (CAAE 73170023.1.0000.5149 datado de 16/10/2023) (ANEXO 3). A partir dessa data, a coleta das amostras de sangue das participantes teve início.

5.5 Obtenção das amostras de sangue

Amostras de sangue (20 mL) foram coletadas, pela manhã, por punção venosa usando agulha de 19G a 21G, seguindo os procedimentos habituais (Sistema Vacutainer). As participantes estavam em jejum de 8 horas. Foram obtidos dois tubos de 5mL de sangue total em citrato de sódio (proporção 9:1), um tubo de 5mL em EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) e outro tubo de 5 mL sem qualquer aditivo. A primeira amostra foi utilizada para obtenção de plasma citratado pobre em plaquetas (PPP) para uso nas análises hemostáticas, mediante centrifugação em até 30 minutos após a coleta a uma velocidade e tempo que resulta em <10.000 plaquetas/mm³. Isso pode ser conseguido por centrifugação dupla que consiste em centrifugar duas vezes a 3000 g durante 15 minutos a temperatura ambiente (22°C). Após este procedimento, as amostras de PPP foram aliqüotadas em criotubos conforme planejamento dos futuros experimentos e imediatamente congeladas em freezer a -80°C. A segunda amostra (em EDTA) foi destinada para a obtenção de sangue total que foi utilizada dentro de, no máximo 4 horas, para a realização do hemograma e classificação do grupo sanguíneo. A terceira amostra, sem aditivo, foi utilizada para obtenção de soro, mediante centrifugação única (2500 rpm por 20 minutos) e, em seguida, aliqüotada em micro tubos estéreis e identificadas, e rápido armazenamento em freezer a

temperatura de - 80°C até o momento do uso (que geralmente era após entre 07 a 15 dias). Tais alíquotas foram utilizadas para a determinação dos parâmetros bioquímicos. As amostras de soro foram coletadas antes das amostras em citrato de sódio, pois durante a punção, fatores de coagulação podem ser ativados, interferindo assim na hemostasia, e podendo alterar os dados do estudo. Por isso, optou-se por realizar a coleta da amostra sem aditivo primeiramente.

5.6 Métodos

5.6.1 Teste de Geração de Trombina (TGT)

TGT foi realizado em PPP usando o método *Calibrated Automated Thrombogram - CAT®* (Thrombinoscope/Stago) em duas condições experimentais, cujo método foi originalmente desenvolvido por Hemker et al., 2003. Para cada amostra, realizou-se um teste em paralelo, adicionando a amostra da participante por um calibrador de concentração conhecida (concentração essa fornecida pelo fabricante – Stago, France). Brevemente, foram adicionados a cada poço de uma placa de 96 wells (em U) os volumes de 80 µL de amostra e 5 µL de tampão HNBSA. Após o preenchimento da placa com as amostras, a mesma foi incubada a 37°C por 10 minutos dentro do fluorímetro (Fluoroskan, Thermo Scientific®, EUA). Após a incubação, foram adicionados 20 µL de concentração conhecida ou Fator tissular - FT (Stago, France), em baixa e em média concentração de FT. O FT utilizado é fornecido em duas concentrações distintas: baixa concentração de FT (PPP Reagent Low) e média concentração de FT (PPP Reagent), sendo a primeira concentração ideal para captar alterações na via extrínseca e a segunda, alterações na via intrínseca. Após essa etapa, a geração de trombina foi iniciada ao adicionar 20 µL de substrato fluorescente I-1140 (Z-Gly-Gly-Arg-AMC) contendo cálcio (Fluca- Stago, France), pelo *dispenser* do fluorímetro. Nestas condições, o substrato é clivado pela trombina formada e libera o fluoróforo AMC. A fluorescência foi lida em um fluorímetro (Fluoroskan Ascent Reader- Thermo Labsystems) e convertida para concentrações equivalentes de trombina (em nM) usando uma curva de referência determinada pela medida da taxa de conversão do substrato fluorescente por um calibrador de trombina de concentração conhecida. Os parâmetros do TGT *Lagtime*, *Time to Peak*, *Peak*, *Endogen Thrombin Potential (ETP)* and *Start Tail* foram calculados pelo software Thrombinoscope

(Thrombinoscope BV, Maastricht, The Netherlands). O *Velocity Index* foi calculado com base nos resultados de *Lagtime* e *Time to Peak* fornecidos pelo *software*.

No presente estudo, os resultados dos parâmetros ETP e *Peak* também foram apresentados normalizados (nETP e n*Peak*), o que significa a razão entre os valores de ETP e *Peak* de cada participante e o valor de um *pool* de amostras de plasma normais. Esse *pool* foi obtido a partir da mistura de 10 amostras de plasma provenientes de mulheres jovens, saudáveis (autorelato), da mesma faixa etária, também universitárias e não em uso de qualquer medicamento.

5.6.2 Dímero D (DD)

O DD foi medido pelo método de imunoturbidimetria utilizando o analisador automático Bioclin 3000 e kit também da Bioclin. Os procedimentos adotados para a realização dessa dosagem seguiram rigorosamente as instruções do fabricante. Valor de referência: < 500ng/mL

5.6.3 Hemograma e índices derivados

O hemograma de cada participante foi realizado em analisador de células automatizado (marca Horiba, modelo YumizenH500), cujos parâmetros incluem a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos (MCV, MCH, MCHC, RDW), contagem global de leucócitos, diferencial de leucócitos (relativa e absoluta) e contagem de plaquetas. A partir dos parâmetros celulares acima foram calculados os índices inflamatórios abaixo:

NLR = Neutrófilos/ Linfócitos

PLR = Plaquetas/Linfócitos

LMR = Linfócitos/Monócitos

dNLR (*derived NLR*) = Neutrófilos / Global de leucócitos – Neutrófilos

SIRI (*systemic inflammation response index* ou índice de resposta à inflamação sistêmica) = Neutrófilos x Monócitos / Linfócitos

AISI (*aggregate index of systemic inflammation* ou índice agregado de inflamação sistêmica) = Neutrófilos x Monócitos x Plaquetas / Linfócitos

SII (*systemic immune-inflammation index* ou índice de inflamação imunológica sistêmica) = Plaquetas x Neutrófilos / Linfócitos

5.6.4 Perfil bioquímico

O perfil bioquímico das participantes desse estudo foi realizado utilizando o analisador automático Bioclin 3000 e kits também da Bioclin, de acordo com as instruções do fabricante. Dosagens incluindo glicose de jejum, transaminases, lipidograma (colesterol total, HDL, LDL e triglicérides) e creatinina compuseram esse perfil.

5.6.5 Determinação do Grupo Sanguíneo do Sistema ABO

O grupo sanguíneo foi determinado por meio do método direto em lâmina conforme descrito por Carvalho e Silva, 1988 (Carvalho e Silva, 1988), utilizando soros comerciais anti-A e anti-B, além do anti-D.

5.6.6 Determinação do índice de massa corporal (IMC)

O IMC foi calculado de acordo com a fórmula $\text{peso} / \text{altura}^2$, sendo que o peso e altura foram obtidos por autorelato.

5.6.7 Variáveis do estudo

-Variável resposta: Hipercoagulabilidade (avaliada por ETP e Dímero D), provocada por uso de CO. O ETP foi obtido em duas condições experimentais: com baixa concentração de fator tissular (PPP *Reagent Low TF*) e média concentração de fator tissular (PPP *Reagent*) (Stago, France), com o objetivo de captar melhor as alterações das vias intrínseca e extrínseca da coagulação, respectivamente.

-Variáveis explicativas (preditores)

Parâmetros do hemograma e índices derivados, uso de contraceptivos orais combinados e DIU, parâmetros bioquímicos e grupo sanguíneo ABO.

-Definição de hipercoagulabilidade:

Para fins analíticos, os valores dos parâmetros ETP e Peak indicativos de hipercoagulabilidade foram definidos como acima da média + - 1 DP.

6 ANÁLISE ESTÁTISTICA

A estimativa do número de amostras testado neste estudo foi feita com base na literatura e na amostragem por conveniência. As variáveis contínuas foram apresentadas como média e desvio-padrão (dados paramétricos) ou mediana e intervalo quartílico (dados não paramétricos), enquanto as variáveis discretas como

frequências absolutas ou relativas. A normalidade foi avaliada por meio da análise dos histogramas. Foi realizada análise de variância (ANOVA) para comparação dos três grupos, e para localizar a diferença entre eles foi aplicado o teste de Tukey. A mesma análise foi realizada para investigar se os grupos sanguíneos ABO e o tempo de uso de contraceptivos estavam associados aos parâmetros hemostáticos, hematológicos e bioquímicos. O coeficiente de correlação de Pearson foi calculado entre as variáveis do perfil hemostático (TGT x Dímero D). Para investigar o efeito de todas as variáveis avaliadas sobre os parâmetros de hemostasia, particularmente o ETP, análises de regressão múltiplas foram realizadas considerando o ETP como variável resposta e os parâmetros, bioquímicos, hematológicos e clínicos como variáveis explicativas. O modelo final para cada variável resposta foi ajustado após procedimento automático de escolha de variáveis “stepwise” que escolheu o modelo com menor AIC. O nível de significância considerado para todas as análises foi de 5%. O *software R* versão 4.3.1 foi utilizado para as análises (R Core Team, 2023. *R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.*

7 RESULTADOS

Características gerais das participantes do estudo

O presente estudo obteve amostras de 100 mulheres, com idade entre 18 e 40 anos. Dessas, 24 (23,76%) constituíram o grupo denominado DIU, que eram aquelas que utilizavam dispositivo intrauterino com liberação de levonorgestrel por mais de 06 meses, e 35 (34,65%) constituíram o grupo CO, composto por aquelas que utilizavam contraceptivos orais por mais de 06 meses. Para o grupo controle, foram selecionadas 39 mulheres saudáveis e que não utilizavam qualquer contraceptivo hormonal. Algumas características clínicas foram destacadas como idade, ser ou não tabagista e o tempo de uso do método, as quais estão apresentadas na Tabela 1. Somente a idade está descrita como média e desvio padrão, enquanto as outras variáveis estão apresentadas em valores absolutos e relativos.

Tabela 1: Características gerais das participantes de acordo com os grupos Controle, DIU e CO.

VARIÁVEL	Controle (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)
Idade (anos)	27,69 (5,89)	27,08 (5,32)	25,79 (4,54)
Tabagismo n=8	3 (8,1%)	3 (12,5%)	2 (7,7%)
Tempo de uso (<1 ano) (n=18)	0	7 (29,2%)	11 (28,2%)
Tempo de uso (1 – 3 anos) (n=17)	0	7 (29,2%)	10 (25,6%)
Tempo de uso (> 3 anos) (n=28)	0	10 (41,6%)	18 (46,2%)

CO= usuárias de contraceptivos orais; DIU=usuárias de dispositivos intrauterinos com liberação de levonorgestrel;

Quanto à média das idades dos grupos, houve um equilíbrio entre elas, não ocorrendo diferença significativa entre os grupos.

O percentual de uso de tabaco em todos os grupos foi baixo, com valores inferiores a 20%. Portanto, a frequência de tabagismo não foi diferente entre os grupos. O tempo de uso para os grupos de DIU e CO foi também observado. Quase metade do grupo de CO (18 entre 39 participantes, 46,2%) utilizava o método há mais de 3 anos, sendo que uma proporção similar foi encontrada nas usuárias de DIU (10 em 24 participantes 41,6%). Todavia, o tempo de uso não influenciou os parâmetros hemostático, hematológico e bioquímico avaliados.

Perfil hemostático das participantes utilizando TGT

O teste de geração de trombina foi utilizado para analisar o perfil hemostático de todas as participantes desse estudo, comparando os grupos (CO e DIU) com o grupo de referência (Controle), para investigar se havia diferença entre eles.

Na Tabela 2 é possível observar os resultados com LTF, ou seja, TGT realizado com Fator tissular em baixa concentração.

Observou-se valores mais elevados de ETP no grupo de CO, e mais baixos no grupo DIU. Ainda em relação ao ETP, esse v parâmetro foi significativamente mais alto para as participantes em uso de COs em comparação às usuárias de DIU e grupo Controle ($P=0,0060$ e $0,0054$, respectivamente). Resultados bastante similares foram observados para o nETP

(Controle x CO, $P=0,0032$; DIU x CO, $P=0,0046$).

Já o parâmetro de *Start Tail*, que representa o início da calda do trombograma, uma diferença foi observada entre CO e Controle ($p=0,0394$). Para os outros resultados dos parâmetros utilizando a condição de LTF (baixa concentração de Fator tissular) não houve diferença significativa, refletindo uma homogeneidade dos grupos em relação a essas variáveis.

Tabela 2 – Perfil hemostático de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do TGT e seus parâmetros utilizando LTF, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETRO S TGT	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
Lagtime (min)	4,49 (0,79)	4,78 (1,27)	4,51 (0,71)	0,4186
Peak (nM)	353,0 (125,9)	313,1 (148,4)	362,4 (136,3)	0,3699

ttPeak (min)	7,37 (1,76)	8,22 (2,60)	7,89 (1,82)	0,2596
ETP (nM/min)	1838,4 (473,8)	1791,0 (441,1)	2214,9 (577,3)	0,0013*
Velocity Index (min)	151,1 (90,1)	123,5 (96,9)	138,8 (100,9)	0,5618
Sart Tail (min)	24,3 (3,7)	25,7 (4,4)	26,52 (3,41)	0,0486*
nPeak (min)	0,93 (0,33)	0,84 (0,39)	0,98 (0,36)	0,3197
nETP (nM/min)	1,10 (0,28)	1,08 (0,26)	1,34 (0,34)	0,008*

TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Lagtime= tempo de latência; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); TTPeak = Time to peak (tempo para atingir o pico); Velocity Index= índice de velocidade; Start tail= início da calda; nETP = ETP normalizado; nPEAK= Peak normalizado.

Para * $p > 0,05$, usando ANOVA seguido de teste de Tukey: ETP (Controle x CO, $P=0,0054$; DIU x CO= $0,0060$); Start tail (Controle x CO, $P=0,0394$); nETP (Controle x CO, $P= 0,0032$; DIU x CO, $P=0,0046$).

Para os parâmetros do TGT utilizando PPP reagente (média concentração de Fator tissular), foi possível observar um número maior de parâmetros com valores de $p > 0,05$. O grupo CO apresentou resultados mais altos em relação ao Controle para ETP ($p=0,0010$), nETP ($p=0,0021$), Peak ($p=0,0226$), nPeak ($p=0,0164$), Start tail ($p=0,0006$). Também quando os grupos CO e DIU foram comparados, valores mais altos foram observados no primeiro grupo (CO) para ETP ($p=0,031$), nETP ($p=0,0048$), Peak ($p=0,0070$), nPeak ($p=0,0053$) e Velocity index ($p=0,0484$).

Para o Start tail houve diferença apenas entre o grupo controle e CO ($p=0,0006$), com valores mais altos para o grupo CO. Os parâmetros Lagtime, e ttPeak não apresentam

diferença entre os grupos CO, DIU e Controle. Esses dados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Perfil hemostático de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do TGT e parâmetros utilizando PPP reagente, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS TGT	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
Lagtime (min)	2,73 (0,29)	2,71 (0,35)	2,69 (0,22)	0,8218
Peak (nM)	381,9 (96,5)	361,9 (104,3)	446,0 (108,1)	0,0035*
ttPeak (min)	5,16 (0,64)	5,33 (0,93)	5,10 (0,57)	0,4561
ETP (nM/min)	1888,0 (501,9)	1873,4 (431,5)	2330 (573,5)	0,0003*
Velocity Index (min)	165,1 (61,9)	151,9 (73,9)	194,7 (6,99)	0,0401
Sart Tail (min)	21,4 (1,93)	22,0 (1,79)	23,1 (1,95)	0,0009*
nPeak	1,02 (0,26)	0,96 (0,27)	1,19 (0,29)	0,0024*
nETP	1,12 (0,31)	1,11 (0,25)	1,37 (0,35)	0,00063*

TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Lagtime= tempo de latência; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); TTPeak = Time to peak (tempo para atingir o pico); Velocity Index= índice de velocidade; Start tail= início da calda; nETP = ETP normalizado; nPEAK= Peak normalizado.

Para $*p>0,05$, usando ANOVA seguido de teste de Tukey: Peak (Controle x CO, $P=0,0226$; DIUxCO, $P=0,0070$); ETP (Controle x CO, $P= 0,0012$; DIUxCO, $P=0,0031$); Start tail (Controle x CO, $P=0,0006$); nPeak (Controle x CO, $P= 0,016$). nETP (Controle x CO, $P= 0,0021$; DIU x CO, $P=0,0048$).

Perfil hemostático utilizando Dímero D

Não houve diferença entre as médias de dímero D nos diferentes grupos (p -valor=0,425). Os valores observados foram de 290,3 (161,3), 320,8 (162,9) e 341,9 (182,9) para os grupos Controle, DIU e CO, respectivamente.

Nas tabelas 4, 4.1, 4.2 estão descritas as correlações entre colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dímero D e IMC com as condições de LTF e PPP reagente (para os parâmetros de ETP e Peak), referentes aos grupos Controle, CO e DIU, respectivamente. É possível observar na tabela 4, que apresenta os dados do grupo Controle, que todos os valores de correlação entre IMC e parâmetros do TGT foram significativos, ou seja, $p<0,05$. De forma similar, para a variável dímero D, a correlação entre essa e parâmetros do TGT também foi significativa ($p<0,05$), exceto para LTF-Peak. Nas tabelas 4.1 e 4.2 estão descritos os resultados dos grupos CO e DIU, respectivamente. De acordo com a tabela 4.1, somente a correlação entre a variável dímero D e LTF-ETP foi significativa ($p<0,04$), para o grupo de mulheres em uso de COs. Quanto ao grupo de mulheres em uso de DIU (tabela 4.2), observou-se diferença significativa para as correlações entre colesterol total e PPP-ETP ($p<0,02$), LDL e LTF-ETP ($p<0,04$), e LDL e PPP-ETP ($p<0,01$).

Tabela 4 – Correlações (e valor de p) entre parâmetros do TGT versus as variáveis colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dímero D e IMC para o grupo Controle.

VARIÁVEIS	LTF-ETP	LTF-PEAK	PPP-ETP	PPP-PEAK
------------------	----------------	-----------------	----------------	-----------------

COLESTEROL	0,254 (0,13)	0,207 (0,21)	0,252 (0,13)	0,146 (0,38)
HDL	-0,060 (0,72)	-0,131 (0,44)	-0,035 (0,83)	-0,084 (0,62)
LDL	0,15 (0,37)	0,258 (0,12)	0,101 (0,55)	0,125 (0,46)
TRIGLICÉRIDES	0,277 (0,09)	0,242 (0,14)	0,315 (0,05)	0,203 (0,22)
DÍMERO D	0,441 (0,006)*	0,223 (0,18)	0,475 (0,003)*	0,345 (0,036)*
IMC	0,426 (0,009)*	0,386 (0,018)*	0,426 (0,009)*	0,345 (0,036)*

*TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); HDL= High Density Lipoprotein; LDL = Low Density Lipoprotein; IMC = Índice de Massa Córpoa. Para *p>0,05.*

Tabela 4.1 - Correlações (e valor de p) entre parâmetros do TGT versus as variáveis as variáveis colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dimero D e IMC para o grupo CO.

VARIÁVEIS	LTF-ETP	LTF-PEAK	PPP-ETP	PPP-PEAK
COLESTEROL	0,306 (0,05)	0,315 (0,05)	0,227 (0,16)	0,297 (0,06)
HDL	0,059 (0,71)	0,058 (0,72)	0,047 (0,77)	0,081 (0,62)
LDL	0,257 (0,11)	0,283 (0,08)	0,183 (0,26)	0,227 (0,16)

TRIGLICÉRIDES	0,25 (0,12)	0,16 (0,33)	0,245 (0,13)	0,239 (0,14)
DÍMERO D	0,325 (0,04)*	0,167 (0,31)	0,261 (0,10)	0,164 (0,31)
IMC	0,199 (0,22)	0,006 (0,97)	0,189 (0,24)	-0,022 (0,89)

*TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); HDL= High Density Lipoprotein; LDL = Low Density Lipoprotein; IMC = Índice de Massa Córpora. Para *p>0,05.*

Tabela 4.2 - Correlações entre parâmetros do TGT versus as variáveis as variáveis colesterol total, HDL, LDL, triglicérides, dimero D e IMC para o grupo DIU.

VARIÁVEIS	LTF-ETP	LTF-PEAK	PPP-ETP	PPP-PEAK
COLESTEROL	0,368 (0,08)	0,166 (0,44)	0,457 (0,02)*	0,249 (0,25)
HDL	-0,057 (0,79)	0,022 (0,92)	-0,125 (0,56)	-0,01 (0,95)
LDL	0,42 (0,04)*	0,193 (0,37)	0,512 (0,01)*	0,266 (0,22)
TRIGLICÉRIDES	0,284 (0,18)	0,087 (0,69)	0,348 (0,10)	0,124 (0,57)
DÍMERO D	0,052 (0,81)	0,105 (0,63)	0,109 (0,62)	0,154 (0,48)
IMC	0,315 (0,14)	0,125 (0,56)	0,393 (0,06)	0,19 (0,38)

*TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); HDL= High Density Lipoprotein; LDL = Low Density Lipoprotein; IMC = Índice de Massa Córpora. Para * $p>0,05$*

Perfil hematológico utilizando o Hemograma

Não houve diferença entre os três grupos de contraceptivos para os parâmetros do hemograma (Tabelas 05 e 06).

Tabela 5 – Perfil hematológico (série vermelha e plaquetas) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do hemograma e seus parâmetros, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
HM (x10 ⁶ /mm ³)	4,36 (0,33)	4,27 (0,32)	4,24 (0,3)	0,2612
HGB (g/dL)	13,29 (0,70)	13,36 (0,92)	13,11 (0,76)	0,4075
HCT (%)	39,08 (2,08)	39,33 (3,16)	38,31 (2,46)	0,2339
VCM (μ ³)	90,55 (3,45)	91,95 (3,41)	89,91 (4,91)	0,1612
HCM (μg)	30,6 (1,98)	31,33 (1,40)	31,02 (1,35)	0,2229
CHCM (%)	34,02 (0,70)	34,07 (0,63)	34,26 (0,75)	0,2977
RDW CV (%)	11,79 (0,55)	11,39 (0,58)	11,18 (0,60)	0,095
PLT (x10 ³ /mm ³)	262,6 (60,70)	261,8 (52,99)	268,9 (64,61)	0,8692
PCT (%)	0,24 (0,05)	0,24 (0,05)	0,25 (0,05)	0,8358
VPM (μ ³)	9,46 (0,87)	9,27 (0,73)	9,35 (0,83)	0,6687
PDW	14,33 (2,31)	13,84 (1,98)	14,18 (2,02)	0,6821

HM= Contagem de hemácias; HGB= Hemoglobina; HCT= hematócrito; VCM= Volume corpuscular médio; HCM= Hemoglobina corpuscular média; CHCM= Concentração da hemoglobina corpuscular Média; RDW: Índice Geral de Anisocitose; PLT=plaquetas; PCT= plaquetócito; VPM= Volume plaquetário médio; PDW=índice geral de anisocitose das plaquetas. Para *p>0,05, usando ANOVA seguido de teste de Tukey: RDW CV (Controle x CO, P=0,0066).

Tabela 6 – Perfil hematológico (série branca) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, por meio do hemograma e seus parâmetros, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
Global Leucócitos (x103/mm3)	6,40 (1,97)	6,24 (1,78)	6,23 (1,70)	0,9069
Neutrófilos (x103/mm3)	3,60 (1,51)	3,62 (1,37)	3,40 (1,23)	0,754
Eosinófilos (x103/mm3)	0,15 (0,18)	0,19 (0,19)	0,15 (0,10)	0,4809
Basófilos (x103/mm3)	0,07 (0,02)	0,06 (0,02)	0,07 (0,02)	0,3002
Linfócitos (x103/mm3)	2,08 (0,48)	1,86 (0,60)	2,17 (0,62)	0,1113
Monócitos (x103/mm3)	0,47 (0,15)	0,48 (0,15)	0,43 (0,11)	0,2743

A partir de dados do hemograma referentes às células do sangue, foram calculados os índices inflamatórios (Tabela 7). Pode-se observar que todos os índices não apresentaram diferença entre os grupos. Porém, PLR apresentou uma tendência a ter resultados mais altos nas participantes do grupo DIU em comparação com aquelas dos grupos CO, entretanto quando avaliado pelo teste de Tukey não houve diferença entre os grupos. Também foram observados resultados mais altos para LMR das participantes do grupo Controle em relação às do grupo DIU ($p=0,0019$).

Tabela 7 – Índices derivados do hemograma de participantes do estudo, de acordo com os grupos Controle, DIU e CO, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
NLR	1,76 (0,67)	2,09 (1,00)	1,62 (0,60)	0,0982
PLR	129,72 (31,52)	154,69 (56,54)	130,82 (37,51)	0,0442 *
LMR	4,70 (1,32)	4,03 (1,22)	5,22 (1,35)	0,0029 *
dNLR	1,29 (0,40)	1,44 (0,61)	1,23 (0,43)	0,3238
SIRI	0,87 (0,55)	1,00 (0,48)	0,70 (0,33)	0,0786
AISI	241,34 (186,06)	264,41 (138,01)	189,83 (100,09)	0,1919
SII	467,79 (227,29)	544,28 (269,37)	439,2 (200,62)	0,2562

NLR = Neutrófilos/ Linfócitos; PLR = Plaquetas/Linfócitos; LMR = Linfócitos/Monócitos; dNLR (derived NLR) = Neutrófilos /Global leucócitos – Neutrófilos; SIRI (systemic inflammation response index ou índice de resposta à inflamação sistêmica) = Neutrófilos x Monócitos / Linfócitos; AISI (aggregate index of systemic inflammation ou índice agregado de inflamação sistêmica) = Neutrófilos x Monócitos x Plaquetas / Linfócitos; SII (systemic immune-inflammation index ou índice de inflamação imunológica sistêmica) = Plaquetas x Neutrófilos / Linfócitos.

Para * $p > 0,05$, usando ANOVA seguido de teste de Tukey: LMR (DIU x CO, $P = 0,0019$).

Perfil bioquímico dos grupos Controle, DIU e CO

Níveis plasmáticos mais altos foram observados no grupo CO para os parâmetros colesterol (CO x DIU, $p = 0,0034$); HDL (CO x Controle, $p = 0,0496$; CO x DIU, $p = 0,0034$) e triglicerídeos (CO x Controle, $p = 0,0004$; CO x DIU, $p = 0,0002$; DIU x Controle, $p = 0,0294$) (Tabela 8). Não houve diferença entre os métodos contraceptivos para TGO e TGP (Tabela 9).

Tabela 8 – Parâmetros do perfil bioquímico de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
Colesterol mg/dL	161,94 (27,1)	151,92 (21,70)	174,7 (30,60)	0,0060 *
Creatinina mg/dL	0,90 (0,22)	0,82 (0,18)	0,95 (0,22)	0,0504
GGT U/L	17,64 (9,56)	21,67 (16,10)	23,95 (16,45)	0,2573
Glicose mg/dL	71,33 (9,68)	71,46 (10,78)	70,28 (10,51)	0,8725
HDL mg/dL	67,69 (16,71)	63,21 (10,85)	75,59 (13,79)	0,0034 *
LDL mg/dL	87,11 (20,56)	81,33 (17,92)	91,00 (24,78)	0,2361
Triglicérides mg/dL	71,92 (47,28)	66,71 (40,56)	110,62 (59,71)	<0,001*

*GGT= gama glutamil transferase; HDL=High-density lipoprotein; LDL=Low density lipoprotein; Para * $p>0,05$, usando ANOVA seguido de teste de Tukey: colesterol (CO x DIU, $p=0,0034$); HDL (CO xControle, $p=0,0496$; CO x DIU, $p= 0,0034$) e triglicérides (CO xControle, $p=0,0004$; CO x DIU, $p= 0,0002$; DIU xControle, $p= 0,0294$).*

Tabela 9 – Parâmetros do perfil bioquímico (TGO e TGP) de mulheres em uso de CO ou DIU e grupo Controle, expressos como mediana (primeiro e terceiro quartis).

	CONTROLE (n=37)	DIU (n=24)	CO (n=39)	P
TGO U/L	14,00 (18,0 - 20,50)	15,00 (18,0 - 24,25)	13,00 (18,0 - 24,00)	0,3351
TGP U/L	6,00 (11,0 - 16,50)	5,00 (11,75 - 18,0)	5,00 (11,0 - 20,00)	0,3307

TGO= Transaminase oxalacética; TGP =transaminase pirúvica.

Os grupos sanguíneos foram analisados e separados em 2 grupos: “O” e “Não O”, ou seja, grupos A, B e AB. Os parâmetros do TGT, na condição de baixa concentração de fator tissular foram comparados entre os dois grupos sanguíneos citados acima, cujos resultados estão apresentados na tabela 10. Os valores de *Peak*, *nPeak* e *Velocity Index* foram mais altos para o grupo mulheres com sangue A, B e AB (p-valores= 0,0013; 0,02 e 0,007). Na condição de média concentração de fator tissular, os resultados foram semelhantes (p-valores = 0,0378; 0,0439 e 0,0287) para os parâmetros *Peak*, *nPeak* e *Velocity Index*.

Tabela 10 - Perfil hemostático de mulheres dos grupos não O e O, por meio do TGT e seus parâmetros utilizando LTF, expressos como média e desvio padrão.

PARÂMETROS TGT	GRUPO NÃO O	GRUPO O	P
Lagtime (min)	4,41 (0,90)	4,76 (0,87)	0,05
Peak (nM)	377,23 (142,04)	309,24 (117,76)	0,013*
ttPeak (min)	7,44 (2,07)	8,20 (1,87)	0,06
ETP (nM/min)	2065,83 (570,20)	1863,73 (486,91)	0,06

Velocity Index (min)	162,56 (105,15)	110,66 (73,50)	0,007*
Sart Tail (min)	25,13 (3,96)	26,06 (3,78)	0,24
nPeak	1,00 (0,38)	0,83 (0,31)	0,02*
nETP	1,24 (0,34)	1,13 (0,29)	0,07

TGT= Teste de geração de trombina; LTF= Low tissue factor; Lagtime= tempo de latência; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); TTPeak = Time to peak (tempo para atingir o pico); Velocity Index= índice de velocidade; Start tail= início da calda; nETP = ETP normalizado; nPEAK= Peak normalizado.

Para * $p > 0,05$ (Peak, $P = 0,013$; Velocity Index $P = 0,007$)

Além das análises apresentadas anteriormente, foi realizada uma análise de regressão linear múltipla para verificar quais variáveis, quando combinadas, estão associadas à hipercoagulabilidade em usuárias de COs, cujos dados podem ser observados na tabela 11. A variável resposta foi o parâmetro LTF-ETP, escolhido por ser um parâmetro que quando aumentado significa maior geração de trombina, ou seja, um potencial estado de hipercoagulabilidade, sabidamente correlacionando melhor com a clínica. Como resultado obteve-se que aquelas mulheres que não utilizavam nenhum método contraceptivo hormonal (Controle) ou que utilizavam DIU hormonal apresentaram uma menor ativação da coagulação medida por LTF-ETP. A redução esperada no valor de ETP em relação ao grupo CO é 289,056 e 287,056, nM/min, respectivamente. Uma diminuição no valor de ETP pode ser também observada nas mulheres do tipo sanguíneo "O". Espera-se um ETP com valor 188,767 nM/min mais baixo em relação às mulheres dos grupos sanguíneos A, B ou AB. Em contrapartida, para aquelas mulheres que apresentam sobrepeso (IMC acima de 25), ou níveis de colesterol acima dos valores de referência, espera-se maior geração de trombina traduzida por um valor de LTF-ETP mais alto, conforme dados apresentados na tabela 11.

Tabela 11 – Análise de regressão linear múltipla associadas à hipercoagulabilidade em usuárias de COs, usando LTF-ETP como variável resposta, e os grupos Controle e DIU, além das variáveis IMC, Grupo Sanguíneo e Colesterol Total como variáveis explicativas.

VARIÁVEIS	ESTIMATIVA	ERRO PADRÃO	"T" VALOR	"P"VALOR
(INTERCEPT)	577,082	417,297	1,383	0,17
CONTROLE	-289,396	111,849	-2,587	0,011
DIU	-287,056	131,672	-2,18	0,031
IMC >=25	33,945	11,131	3,05	0,003
SANGUE "O"	-188,767	97,458	-1,937	0,055
COLESTEROL TOTAL > VR	5,119	1,76	2,908	0,004

DIU= Dispositivo Intra Uterino; IMC = Índice de Massa Córpoarea; VR= Valor de Referência.

Conforme apresentado na tabela 12, foi realizada uma outra análise de regressão múltipla associada à hipercoagulabilidade em usuárias de COs, DIU e CONTROLE, usando LTF-ETP como variável resposta e as variáveis Dímero D, HDL, LDL e triglicérides como explicativas. Na tabela 12, é possível observar que as variáveis Dímero D, HDL, LDL e triglicérides se mostraram significativamente associadas ao aumento de LTF-ETP. O aumento de uma unidade em todas as variáveis explicativas resulta em aumento significativo do ϵ valor de LTF-ETP, sendo o HDL o mais expressivo aumentando em 6,59; o LDL em 5,23; o triglicérides em 2,43; e, finalmente, o Dímero D, em apenas 0,924.

Tabela 12 – Análise de regressão múltipla associada à hipercoagulabilidade em

usuárias de COs, DIU e CONTROLE, usando LTF-ETP como variável resposta e as variáveis Dímero D, HDL, LDL e Triglicérides como explicativas.

VÁRIAVEIS	COEFICIENTE	ERRO PADRÃO	"T" VALOR	P VALOR
CONSTANTE	566	333	1,7	0,092
DÍMERO D	0,924	0,295	3,13	0,002
HDL	6,59	3,27	2,02	0,047
LDL	5,23	2,31	2,26	0,026
TRIGLICÉRIDES	2,43	0,946	2,57	0,012

LTF= Low tissue factor; Peak= pico; ETP = Endogen thrombin potential (Potencial de trombina endógeno); HDL= High Density Lipoprotein; LDL = Low Density Lipoprotein;

8 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o perfil hemostático de mulheres jovens em uso ou não (controles) de contraceptivos orais (COs) ou dispositivo intrauterino (DIU), com liberação de levonorgestrel, por meio das medidas de geração de trombina (TGT) e dímero D (DD). Além de avaliar a utilidade dos testes que avaliam globalmente a coagulação (como o TGT) para caracterizar a hemostasia em usuárias de CO (ou de DIU) em nosso meio, nosso objetivo foi também identificar os possíveis fatores associados ao perfil predisponente à hipercoagulabilidade, fatores esses facilmente obtidos por meio de exames laboratoriais de rotina, como parâmetros bioquímicos, hemograma (e índices derivados das células do sangue), e grupo sanguíneo ABO.

A análise de algumas características sócio demográficas, tais como idade, tabagismo e tempo de uso de contraceptivos não revelou qualquer influência sobre o perfil hemostático dos três grupos, ou seja, COs, DIU e Controle. A faixa etária analisada compreendeu mulheres de 18 a 40 anos, sendo ainda consideradas jovens, fato que por si só não justificaria um *status* predisponente à hipercoagulabilidade. Com relação

ao tabagismo, apenas uma minoria relatou ser fumante, o que pode justificar o não encontro de diferença significativa entre os fumantes e não fumantes. Por sua vez, o tempo de uso de COs analisado no presente estudo foi, no mínimo, de 6 meses e, segundo a literatura, as maiores alterações hemostáticas já ocorreriam antes deste tempo, conforme revisado por Morimont et al., 2021. A maioria das participantes já usavam COs há mais de 3 (três) anos. No entanto, quando o IMC foi analisado em conjunto, mulheres com sobrepeso comparadas às eutróficas, apresentaram valores de ETP significativamente mais elevados em ambas as concentrações de FT ($P=0,0032$ e $0,0024$, respectivamente), bem como o *Peak* em média concentração de TF ($P= 0,0024$).

Com relação ao perfil hemostático em usuárias de COs, interesse maior desse estudo, verificou-se uma tendência à hipercogulabilidade avaliada pelo TGT. Os parâmetros mais consistentes foram o ETP, nETP e o *Start tail* (início da cauda), cujos valores foram significativamente mais altos, comparados àqueles observados para o grupo Controle, em ambas as concentrações de FT. O ETP representa a área sob a curva (Trombograma) e quanto maior a área, maior também será o potencial de trombina endógeno, cujo parâmetro é o que melhor correlaciona com a Clínica (LECUT et al., 2015; BINDER et al., 2021).. Em consonância com valores de ETP mais altos, os valores também mais altos do *Start tail* refletem um tempo maior para a reação atingir seu ponto final, em função da maior área sob a curva. Quando os grupos COs e DIU foram comparados, os resultados foram bastante similares aos anteriores. Porém, o mesmo não aconteceu quando os grupos DIU e Controle foram comparados, não tendo sido encontrada diferença significativa entre tais grupos. Esse achado é, ao nosso ver, bastante interessante, pois sugere que as usuárias de DIU hormonal não apresentam ativação da coagulação contrariamente àquelas que optam por uso de COs.

Quanto ao *Peak*, parâmetro também bastante importante, não foi observada diferença significativa entre os grupos quando as análises foram realizadas com baixa concentração de TF. Ao contrário, quando foi utilizada média concentração de FT, o *Peak* foi significativamente mais alto nos grupos COs *versus* Controle e COs *versus* DIU, não ocorrendo o mesmo entre os grupos DIU *versus* Controle.

Diante do exposto acima, nossos achados confirmam o potencial protrombótico provocado pelo uso de COs, contribuindo para fortalecer estudos prévios sobre o assunto (ROSING & TANS, 1999; ROSING et al., 2008; TCHAIKOVSKI et al, 2021;

WU et al., 2023), bem como o uso do TGT na avaliação de estados de hipercoagulabilidade. Segundo os autores acima, contracepção hormonal é um conhecido fator de risco para tromboembolismo venoso (TEV) possivelmente devido a resistência à proteína C ativada e comprometimento da função da proteína S e TFPI, dentre outros fatores. O aumento de parâmetros do TGT, notadamente do ETP, sugere elevação dos níveis plasmáticos de fatores de coagulação, ao mesmo tempo em que pode estar ocorrendo uma diminuição dos componentes da anticoagulação natural. Segundo Tchaikovski et al., 2021, o uso de COs causou o aumento da resistência à proteína C ativada (RPCa) e o comprometimento do sistema proteína S/TFPI em mulheres com TEV prévio induzido por hormônios. Cumpre ressaltar que a RPCa pode ocorrer conseqüente à presença de fatores genéticos (como FV Leiden, por exemplo), e fatores adquiridos como aumento nos níveis de FVIII (provocado por diferentes fatores, incluindo uso de COs e presença de anticoagulante lúpico) (CASTOLDI & ROSING, 2010), dentre outros. Cabe ressaltar que a proteína S, no âmbito da hemostasia, tem importante função como cofator da proteína C e do inibidor da via do fator tissular (TFPI) (ROSING et al., 2008; PERARAMELLI et al., 2012, 2013; 2016). Sua deficiência está associada a predisposição/eventos trombóticos dado o seu papel, juntamente com a proteína C, na proteólise dos fatores Va e VIIIa, importantes procoagulantes (ESMON, 2003). Além do mais, uma maior ativação da via extrínseca deve ocorrer (favorecendo a geração de trombina) conseqüente à redução dos níveis plasmáticos da Proteína S, já que a mesma é capaz de potencializar a ação inibitória do TFPI (ROSING et al., 2008). Segundo esses autores, além do papel da proteína S como cofator da proteína anticoagulante PCa., ela também exibe outra atividade anticoagulante. Por meio de experimentos de geração de trombina em plasma normal e em plasma deficiente em inibidor da via do fator tecidual (TFPI) e/ou proteína S, foi demonstrado que a proteína S estimula a inibição do fator tissular (TF) pelo TFPI. Ou seja, na deficiência de proteína S ou de TFPI, haveria uma maior ativação da cascata de coagulação e, conseqüentemente, maior geração de trombina.

Diante do exposto, nossos achados indicativos de hipercoagulabilidade nas usuárias de COs em comparação aos grupos DIU e Controle, podem ser conseqüentes à ativação da coagulação e deficiência na anticoagulação natural, cujo somatório poderia justificar, pelo menos parcialmente, os valores consistentemente aumentados de ETP, nas duas concentrações de FT, refletindo maior geração de trombina.

Corroborando com esta ideia, Rosing et al. (2008), também reportaram que a atividade do sistema TFPI/proteína S está fortemente prejudicado em usuárias de COs.

Vale também acrescentar que as duas concentrações de FT apresentaram resultados similares para o ETP. Partindo do conhecimento que testes realizados com baixa concentração de FT são mais adequados à detecção de alterações na via intrínseca da coagulação e média concentração para a via extrínseca (DEPASSE et al, 2021), pode-se sugerir que o aumento dos valores de ETP refletem alterações em ambas as vias, além da via comum. Sabe-se que a proteína S (juntamente com a proteína C ativada) exerce seu efeito inibidor tanto na via intrínseca (proteolisa o fator VIIIa) e comum (proteolisa o fator Va) (ESMON, 2006), bem como na extrínseca (ativa TFPI) (PERARAMELLI et al., 2012). Isso posto, uma redução dos níveis da proteína S (o que é compatível com o uso de COs) favorece a geração de trombina, o que explicaria em parte o aumento similar de ETP nas duas condições experimentais. Uma avaliação laboratorial dos anticoagulantes naturais, particularmente da proteína S, daria suporte para a hipótese mencionada acima.

Em consonância com nossos resultados, outros estudos foram também reportados previamente. Desde 1999, Rosing & Tans reportaram que o índice normalizado de sensibilidade a PCa (nAPCsr) do grupo de usuárias de COs era significativamente mais alto quando comparado ao mesmo índice em não usuárias; em outras palavras, usuárias de COs apresentaram uma maior resistência à ação da PCa. De acordo com os mesmos autores, o nAPCsr de mulheres em uso de COs com progestagênios de terceira geração foi mais alto do que de segunda geração, indicando maior resistência à ação de PCa no primeiro grupo, ou seja, favorecendo menos proteólise de FVa e FVIIIa e, portanto, mais geração de trombina. O estudo de Mohamed et al. (2018), realizado com mulheres sauditas em uso de contracepção oral reportou resistência às ações inibitórias da TM e PCa, mais especificamente em mulheres com sobrepeso e obesas, tendo sido os valores de ETP e *Peak* os mais discriminativos entre usuárias e não usuárias de COs.

Interessante seria também a realização de análises comparativas entre as diversas formulações dos COs (diferentes gerações), mas o limitado número de amostras analisadas no presente estudo não permitiu esta estratificação.

Como esperado os parâmetros do TGT não diferiram entre os grupos DIU e Controle. Esse achado sugere não haver ativação da coagulação e nem comprometimento da

competência da anticoagulação natural consequente à redução dos componentes desse sistema, como a Proteína S. A contracepção por meio do uso de DIU, mesmo que hormonal, deve ser encorajada nas mulheres, principalmente naquelas com maior risco de formação de trombos. Mais estudos, com um tamanho amostral maior, serão muito bem vindos visando explorar este importante aspecto, cujos resultados poderão contribuir para a saúde da mulher.

A escolha do TGT como ferramenta para avaliação do sistema hemostático das participantes desse estudo, baseia-se na capacidade desta técnica detectar estados de hipo e hipercoagulabilidade (HEMKER et al., 2003, LECUT et al., 2015; DEPASSE et al., 2021) refletindo o potencial de trombina, cujo papel é crucial nesse sistema. Ao contrário dos exames tradicionais como Tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial (TTPa), comumente utilizados na rotina laboratorial e que atingem seu ponto final com cerca de apenas 5% do total de trombina, o TGT é capaz de avaliar a hemostasia de forma ampla, abrangendo as etapas de iniciação, amplificação e propagação da coagulação. Dessa forma, o TGT é mais representativo do estado fisiológico e pode refletir melhor o fenótipo hemostático.

Dentre suas múltiplas funções, conforme revisado por Al-Amer (2022), a trombina está envolvida na amplificação da coagulação e na conversão do fibrinogênio em fibrina, além de amplificar por *feedback* fatores de coagulação, ativar plaquetas, bem como regular a coagulação por meio da anticoagulação natural e o sistema fibrinolítico (por exemplo, TAFI – inibidor da fibrinólise ativável pela trombina). Em suma, a coagulabilidade do sangue é ditada pelo seu potencial para gerar trombina. Além de seu papel essencial na hemostasia, a trombina também provoca uma série de respostas no endotélio vascular, incluindo alterações de forma e permeabilidade, mobilização de moléculas de adesão para a superfície endotelial e estimulação da produção de citocinas, conforme revisado por Shaw et al. (2023).

A coagulação pode ser afetada por fatores genéticos ou adquiridos, inibidores da coagulação, exposições hormonais exógenas e terapias anticoagulantes. Dessa forma, o TGT fornece uma abordagem simples que, em teoria, leva em conta fatores pró-coagulantes e anticoagulantes. Por isso, tem sido referido como um teste global de coagulação, fornecendo uma avaliação abrangente do fenótipo da coagulação do sangue (HEMKER & BEGIN, 2000; BAGLIN, 2005).

Nossos resultados reforçam a importância de buscar a padronização e validação do TGT, ferramenta com grande potencial de aplicação para avaliação de estados de hipercoagulabilidade em mulheres em uso de COs, entre inúmeras doenças e outras condições relacionadas a distúrbios hemostáticos.

Dentro do espectro do perfil hemostático, destaca-se o dímero D (DD), cuja dosagem já é realizada em muitos laboratórios clínicos. O DD corresponde ao menor fragmento da fibrina (OLSON, 2015) resultante da ação da fibrinólise, em resposta à ativação da coagulação. Sua avaliação tem sido solicitada pela clínica médica para investigar o *status* hemostático, principalmente de indivíduos suspeitos de tromboembolismo venoso (TEV) (OLSON, 2015). Está estabelecido que o nível normal de DD é um importante elemento para descartar o diagnóstico de tromboes venosas profundas (TVP) ou embolia pulmonar (EP) devido ao seu alto valor preditivo negativo (NOMURA et al., 2008). Com base nos valores aumentados de ETP observados em nosso estudo, refletindo maior geração de trombina, esperar-se-iam também valores aumentados de DD, partindo do pressuposto que quanto mais trombina, mais fibrina; e, quanto mais fibrina, mais DD, desde que o sistema fibrinolítico esteja operando dentro da normalidade. No entanto, os valores de DD não foram diferentes entre os grupos, cujo achado levanta a possibilidade de que os inibidores do sistema fibrinolítico possam estar aumentados, como o PAI-1, nas participantes em uso de COs, o que favoreceria a manutenção de coágulos de fibrina. De fato, alguns investigadores (YARMOLINSKY et al., 2016; YOUSUF et al., 2023) reportaram que o uso de COs causou aumento dos níveis de PAI-1, favorecendo uma hipofibrinólise.

Ainda explorando o contexto do perfil hemostático, ressalta-se a importância dos grupos sanguíneos do sistema ABO. Conforme reportado na literatura pertinente (JENKINS & DONNELL, 2006; GALLINARO et al., 2008; BIGUZZI et al., 2021), indivíduos dos grupos sanguíneos “não O” (A, B e AB) apresentam maior tendência protrombótica quando são comparados com aqueles do grupo “O”, o que se explica por níveis plasmáticos mais elevados de fator von Willebrand (FvW) e FVIII, cujo aumento pode se acentuar com a idade mediado por fatores adquiridos. No entanto, segundo os autores mencionados acima, o aumento de FvW e FVIII é quase desprezível antes dos 50 anos de idade (BIGUZZI et al., 2021). Quanto aos fatores adquiridos, esses estão associados à função renal e, ainda, à maior secreção de FvW e FVIII, enquanto o grupo sanguíneo “O” é capaz de desempenhar um papel importante na regulação da depuração. Vários estudos (BOWEN, 2003; O’DONNELL

et al, 2005; NOSSENT et al., 2006 e outros) avaliaram possíveis mecanismos que explicam níveis mais elevados de FvW em indivíduos com grupo sanguíneo “não O”. Várias justificativas foram aventadas incluindo uma depuração aumentada de FvW em indivíduos do grupo sanguíneo “O” devido a características específicas do FvW ou ao sistema de depuração de indivíduos deste grupo sanguíneo. Além disso, foi reportado também por esses autores, que o grupo sanguíneo “O” poderia desempenhar um papel através dos açúcares terminais do FvW, tornando-o mais suscetível à proteólise por ADAMTS-13.

De acordo com nossos resultados, as participantes em geral do presente estudo classificadas como sendo dos grupos “Não O”, apresentaram valores de Peak significativamente mais altos em relação ao grupo sanguíneo “O”, na condição de baixa concentração de FT. Em relação ao ETP, na mesma condição, foi observada uma tendência ($P=0,06$) para valores mais altos também para aquelas participantes dos grupos sanguíneos “não O” em comparação as do grupo “O”. Vale ressaltar que o Peak, na condição de baixa concentração de FT, conseguiu discriminar melhor a diferença entre os grupos “O” e “Não O”. Partindo do conhecimento que o Peak depende, dentre outros fatores, dos níveis de fatores de coagulação, é possível sugerir que o aumento nos níveis de FVIII e de FvW encontrado nas participantes do grupo “Não O” justifique esse achado, ou seja, um Peak significativamente aumentado. Diante dos nossos achados aliados aos da literatura (no que se refere ao maior potencial trombótico de indivíduos dos grupos “Não O”), sugere-se que o grupo sanguíneo da mulher possa influenciar na escolha do tipo de método contraceptivo a ser utilizado.

Após as considerações referentes à interpretação dos resultados dos parâmetros hemostáticos, pode-se sugerir que os mecanismos envolvidos nos frequentes eventos trombóticos observados nas mulheres em uso de COs são desencadeados pelo excesso de geração de trombina que favorece a formação de mais fibrina, a qual não é devidamente degradada em função da hipofibrinólise. Uma avaliação completa dos componentes do sistema fibrinolítico e seus inibidores, indubitavelmente, forneceria importantes *insights* sobre a questão em pauta.

Quanto ao perfil hematológico, incluindo os índices derivados do hemograma, foram observadas diferenças entre os grupos para os índices PLR ($P=0,0442$) e LMR

($P=0,0029$), com valores curiosamente mais altos para PLR e mais baixos para LMR, em relação ao grupo de mulheres com DIU. Este achado se justifica matematicamente pelo fato de o número de linfócitos ter apresentado forte tendência à redução no grupo com DIU em comparação aos grupos CO e Controle. Uma vasta revisão da literatura não revelou uma explicação plausível para esse encontro. Dessa forma, com base nessa lacuna na literatura, presume-se que os métodos contraceptivos não são capazes de alterar o perfil hematológico e índices calculados com base no número de células do sangue, possivelmente não agregando valor clínico. Por outro lado, essa assertiva é conflitante com nossas observações, requerendo mais estudos para confirmar ou não este achado inesperado.

Quanto às análises bioquímicas das participantes em uso de COs ou DIU, no presente estudo foram observadas alterações no perfil lipídico, com níveis plasmáticos significativamente mais altos para colesterol total (CT), HDLc e triglicérides no grupo de mulheres em uso de COs em comparação às mulheres em uso de DIU e Controles. O parâmetro HDL também apresentou valores superiores quando o grupo CO foi comparado aos grupos Controle e DIU. Uma análise dos dados remete à ideia de que os níveis mais elevados de CT ocorrem por elevação do HDL, já que não houve diferença significativa para os níveis de LDL. Se por um lado, esse achado é animador, por outro, os níveis mais elevados de triglicérides nas participantes em uso de COs vêm corroborar com os possíveis prejuízos provocados em função desses medicamentos contraceptivos.

Segundo Laati-Kremers et al. (2022), que investigaram indivíduos de uma grande coorte populacional italiana (Estudo Moli-sani; $N = 22.546$ indivíduos; idade ≥ 35 anos; 48% homens), excesso de peso e obesidade foram significativamente associados a valores mais altos de ETP, *Peak* e *Velocity Index* (VI) ($p < 0,001$), bem como níveis mais altos de colesterol total (CT), LDLc e triglicérides. Em conclusão, o estudo de Laati-Kremers et al. (2022) revelou associações significativas de IMC elevado e níveis de lipídios no sangue com aumento de geração de trombina. E, segundo os mesmos autores, esse estado de hipercoagulabilidade pode explicar parcialmente o risco aumentado de doenças cardiovasculares em indivíduos com obesidade e/ou dislipidemia.

Partindo do princípio que o uso de COs no presente estudo induziu alterações no perfil lipídico (CT, HDL e triglicérides) e sabendo-se que alterações nesse perfil estão associadas com valores mais altos de ETP, *Peak* e *Velocity index*, pode-se sugerir que os níveis mais altos de CT, HDL e triglicérides encontrados por nós apresentam relação direta com o aumento do potencial de trombina. No entanto, mais estudos são necessários para confirmar essa relação que pode ter grande importância no desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Coerente com o exposto acima, de acordo com os nossos resultados do primeiro modelo de regressão linear múltipla, vale ressaltar que maior geração de trombina traduzida por um valor de ETP mais alto, é esperada para mulheres usuárias de CO que apresentam sobrepeso (IMC acima de 25), ou níveis de colesterol acima dos valores de referência. Ainda de acordo com o mesmo modelo, mulheres que não utilizavam qualquer método contraceptivo hormonal (Controle) ou que utilizavam DIU hormonal apresentaram uma menor ativação da coagulação medida por ETP. A redução esperada no valor de ETP em relação ao grupo CO é 289,056 e 287,056, nM/min, respectivamente. Uma diminuição de ETP pode ser também observada nas mulheres do tipo sanguíneo "O", em relação às aquelas dos tipos A, B ou AB, o que vem ressaltar a influência do tipo sanguíneo sobre o sistema hemostático. Um segundo modelo de regressão múltipla mostrou associação significativa entre as variáveis HDL, LDL e triglicérides, e aumento de LTF-ETP, o que vem ressaltar a importância dos parâmetros lipídicos como predisponentes à hipercoagulabilidade. Dessa forma, manutenção dos níveis plasmáticos de tais parâmetros dentro dos valores de referência, bem como o controle de peso devem ser medidas incentivadas em mulheres que usam ou pretendem usar COs. Alternativamente o uso de COs não deve ser prescrito para mulheres com dislipidemia ou sobrepeso/obesidade, cabendo uma discussão entre médico e paciente sobre as opções de contracepção ideais para cada mulher de acordo com seu perfil.

Por fim, em suma, quanto ao uso de DIU como método contraceptivo, os nossos resultados foram bastante favoráveis no tocante à hemostasia, pois não foram observadas alterações sugestivas de hipercoagulabilidade, o que poderia implicar em risco diminuído de evento trombótico em mulheres jovens e saudáveis usuárias de COs.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em suma, uma maior investigação sobre os mecanismos envolvidos nos distúrbios hemostáticos protrombóticos que ocorrem em mulheres em uso de COs pode facilitar nossa compreensão acerca desta questão e contribuir para melhores estratégias de escolha do CO a ser utilizado para cada mulher de acordo com seu perfil laboratorial, em consonância com os ditames da Medicina personalizada. Tem sido amplamente reconhecida a necessidade de um teste global padronizado e validado que seja capaz de reproduzir precisamente as condições hemostáticas *in vivo*. Até o momento, o TGT tornou-se a abordagem mais confiável para avaliar o estado de ativação da coagulação, com grande potencial clínico (Wu et al., 2023), o que vem justificar plenamente a escolha desse método no presente estudo. O potencial clínico do TGT é bastante promissor devido às suas numerosas aplicações, como a investigação de mecanismos de trombogênese (TRIPODI, 2020), o que pode ser favorecido pelo uso de COs.

De acordo com Morimont et al. (2021), diante dos possíveis prejuízos causados pelo uso de COs, uma perspectiva lógica e acessível seria a implementação de um rastreamento de base do estado pró-trombótico para fornecer aos profissionais de saúde dados objetivos para apoiar a prescrição do método contraceptivo mais apropriado. Ainda segundo esses autores, embora esta estratégia tenha sido considerada demasiado difícil e onerosa por ser dependente de recursos laboratoriais limitados, o teste de resistência à PCa baseado no potencial de trombina endógena (ETP) pode representar uma alternativa interessante, o que vem conferir utilidade aos achados do presente estudo.

Sob o ponto de vista científico, tecnológico e social, entre os benefícios do presente estudo, espera-se que os dados aqui apresentados possam ser úteis para expandir a possível aplicação do TGT, acerca do impacto do uso de diferentes métodos contraceptivos (COs e DIU) sobre o sistema hemostático. Tais resultados poderão inspirar estudos maiores que, indubitavelmente, serão úteis para nortear a tomada de decisão na prescrição de diferentes hormônios como contraceptivos para mulheres jovens e saudáveis. Ressalta-se que o TGT consiste em uma metodologia bastante atual, considerado estado da arte para investigação do sistema hemostático, e com enorme potencial de aplicação à clínica. Ainda, o possível aumento da ativação da coagulação atribuída ao uso de hormônios, sugere que o uso destes medicamentos

deve ser revisto em mulheres com risco aumentado de aterosclerose e outros fatores de risco cardiovascular.

No entanto, o presente estudo apresenta também limitações como um tamanho amostral limitado, informações obtidas por autorelato e ausência de testes genéticos para pesquisa de FV Leiden e mutação no gene da protrombina visando excluir os casos positivos da amostra estudada, caso observados. Cumpre ressaltar também que os resultados obtidos por nós carecem de maior exploração acerca das possibilidades de análises estatísticas para obtenção de mais conhecimento e geração de mais hipóteses de estudo.

10 CONCLUSÕES

Uma análise conjunta dos dados permitiu as seguintes conclusões:

- 1) Mulheres jovens em uso de COs apresentaram maior ativação da coagulação, avaliada principalmente pelos níveis mais altos de ETP nas duas condições experimentais, confirmando achados prévios; ao contrário, as mulheres em uso de DIU não apresentaram predisposição protrombótica;
- 2) Os resultados de dímero D não foram diferentes entre os grupos;
- 3) O grupo sanguíneo “Não O”, aumento de IMC, Colesterol se mostraram associados ao maior potencial de geração de trombina em mulheres usuárias de COs avaliado pelo TGT nas duas concentrações de FT;
- 4) O uso de COs não influenciou os parâmetros hematológicos, incluindo os índices inflamatórios, e os parâmetros bioquímicos, exceto os lipídicos; enquanto o grupo com DIU não apresentou qualquer alteração nos referidos parâmetros;
- 5) O TGT (ETP) se mostrou como poderosa ferramenta para triagem dos efeitos nocivos do uso de COs sobre o sistema hemostático, sendo útil no contexto de contracepção oral.

REFERÊNCIAS

ADUKAUSKIENE, D.; MILIAUSKIENE, V. Sudetines kontraceptines tabletes ir hiperkoaguliacija [Combined oral contraception and hypercoagulation. **Medicina (Kaunas)**, v. 46, n. 4, p. 293–297, 2010.

AL-AMER, O. M. The role of thrombin in haemostasis. **Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis**, v. 33, n. 3, p. 145–148, 2022.

ARMSTRONG, E. M. et al. Acquired thrombophilia. **Journal of pharmacy practice**, v. 27, n. 3, p. 234–242, 2014.

ANNEX, A. World Health Organization Model List of Essential Medicines-23rd List. In: **The Selection and Use of Essential Medicines 2023: Executive Summary of the Report of the 24th Who Expert Committee**. [s.l: s.n.].

BAGLIN, T. The measurement and application of thrombin generation. **British journal of haematology**, v. 130, n. 5, p. 653–661, 2005.

BALDWIN, M. K. et al. Hormonal therapies in females with blood disorders: thrombophilia, thrombosis, hemoglobinopathies, and anemias. **Research and practice in thrombosis and haemostasis**, v. 7, n. 4, p. 100161, 2023.

BERNTORP, E.; SALVAGNO, G. L. Standardization and clinical utility of thrombin-generation assays. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 34, n. 7, p. 670–682, 2008.

BIGUZZI, E. et al. Rise of levels of von Willebrand factor and factor VIII with age: Role of genetic and acquired risk factors. **Thrombosis research**, v. 197, p. 172–178, 2021.

BINDER, N. B. et al. Clinical use of thrombin generation assays. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 19, n. 12, p. 2918–2929, 2021.

BORISSOFF, J. I.; SPRONK, H. M. H.; TEN CATE, H. The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. **The New England journal of medicine**, v. 364, n. 18, p. 1746–1760, 2011.

BOWEN, D. J. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS13. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 1, n. 1, p. 33–40, 2003.

BUCHBINDER, S. et al. Body weight and oral contraceptives are the most important modulators of serum CRP levels. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 68, n. 2, p. 140–144, 2008.

CAMPESI, I. et al. Combined oral contraceptives modify the effect of smoking on inflammatory cellular indexes and endothelial function in healthy subjects. **European journal of pharmacology**, v. 891, n. 173762, p. 173762, 2021.

CASTOLDI, E.; ROSING, J. APC resistance: biological basis and acquired influences. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 8, n. 3, p. 445–453, 2010.

CASTOLDI, E.; ROSING, J. Thrombin generation tests. **Thrombosis research**, v. 127, p. S21–S25, 2011.

CAUCI, S. et al. Effects of third-generation oral contraceptives on high-sensitivity C-reactive protein and homocysteine in young women. **Obstetrics and gynecology**, v. 111, n. 4, p. 857–864, 2008.

Contraceptive Use by Method 2019: Data Booklet; Department of Economic and Social Affairs, Population Division. United Nations; New York, NY, USA: [s.n.].

CURVERS, J. et al. Acquired APC resistance and oral contraceptives: differences between two functional tests. **British journal of haematology**, v. 105, n. 1, p. 88–94, 1999.

DAHLBÄCK, B. Natural anticoagulant discovery, the gift that keeps on giving: finding FV-Short. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 21, n. 4, p. 716–727, 2023.

DAHLBÄCK, B.; CARLSSON, M.; SVENSSON, P. J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. **Proceedings of the**

National Academy of Sciences of the United States of America, v. 90, n. 3, p. 1004–1008, 1993.

DAUTAJ, A. et al. Hereditary thrombophilia. **Acta bio-medica : Atenei Parmensis**, v. 90, n. 10- S, p. 44–46, 2019.

DE BASTOS, M. et al. Combined oral contraceptives: venous thrombosis. **Cochrane database of systematic reviews**, v. 2014, n. 3, p. CD010813, 2014.

DE LAAT-KREMERS, R. et al. Increased BMI and blood lipids are associated with a hypercoagulable state in the Moli-sani cohort. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 9, 2022.

DIELIS, A. W. J. H. et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population: Combined TFPI and TM deficiency. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 6, n. 1, p. 125–131, 2008.

DRAGOMAN, M. V. et al. A systematic review and meta-analysis of venous thrombosis risk among users of combined oral contraception. **International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics**, v. 141, n. 3, p. 287–294, 2018.

EDELMAN, A. B. et al. Impact of obesity on oral contraceptive pharmacokinetics and hypothalamic- pituitary-ovarian activity. **Contraception**, v. 80, n. 2, p. 119–127, 2009.

ELLIOTT-SALE, K. J. et al. The effects of oral contraceptives on exercise performance in women: A systematic review and meta-analysis. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 50, n. 10, p. 1785–1812, 2020.

ESMON, C. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 32, n. S 1, p. 049–060, 2006.

FERREIRA, A. C. P. et al. Efeitos do contraceptivo oral contendo 20 µg de etinilestradiol e 150 µg de desogestrel sobre os sistemas de coagulação e fibrinólise. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 22, n. 2, 2000.

FERREIRA, C. N.; SOUZA, M. DE O.; DUSSE, L. M. S.; CARVALHO, M. DAS G. **O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações.** Revista brasileira de hematologia e hemoterapia. v.32, n.5, p. 416-421 2010.

FRANCO, HF. **Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise.** Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: Hemostasia e Trombose 34: 229-237, jul./dez. 2001.

FOIS, A. G. et al. The systemic inflammation index on admission predicts in-hospital mortality in COVID-19 patients. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 23, p. 5725, 2020.

GALLINARO, L. et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor. **Blood**, v. 111, n. 7, p. 3540–3545, 2008.

GEDFIE, S. et al. Hematological parameters of reproductive-age women using hormonal contraceptives at University of Gondar Comprehensive Specialized Referral Hospital, Northwest Ethiopia: A comparative cross-sectional study. **PloS one**, v. 17, n. 11, p. e0277254, 2022.

GOURBIL, M. et al. The French Network of Regional Pharmacovigilance Centres. Thromboembolic events in women exposed to hormonal contraception or cyproterone acetate in 2012: A cross-sectional observational study in 30 French public hospitals. **Drug Saf**, v. 37, p. 269–282, 2014.

HAN, L.; JENSEN, J. T. Does the progestogen used in combined hormonal contraception affect venous thrombosis risk? **Obstetrics and gynecology clinics of North America**, v. 42, n. 4, p. 683–698, 2015.

HEINZMANN, A. et al. Role of exosite binding modulators in the inhibition of Fxa by TFPI. **Thrombosis and haemostasis**, v. 115, n. 03, p. 580–590, 2016.

HEMKER, H. C. et al. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. **Thrombosis and haemostasis**, v. 70, n. 4, p. 617–624, 1993.

HEMKER, H. C. et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. **Pathophysiology of haemostasis and thrombosis**, v. 32, n. 5–6, p. 249–253, 2002.

HEMKER, H. C. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. **Pathophysiology of haemostasis and thrombosis**, v. 33, n. 1, p. 4–15, 2003.

HEMKER, H. C.; WILLEMS, G. M.; BEGUIN, S. A computer assisted method to obtain the prothrombin activation velocity in whole plasma independent of thrombin decay processes. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 56, p. 9-17, 1986

HEMKER, H. C.; BEGUIN, S. Thrombin Generation in plasma: its assessment via the endogenous thrombin potential. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 74, p. 134–138, 1995.

HEMKER, H. C.; BÉGUIN, S. Phenotyping the clotting system. **Thrombosis and haemostasis**, v. 84, n. 5, p. 747–751, 2000.

HEMKER, H. C.; DIERI, R.; SMEDT, E. Thrombin generation, a function test of the haemostatic thrombotic system. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 96, p. 553–561, 2006.

HOFFMAN, M. Remodeling the blood coagulation cascade. **Journal of thrombosis and thrombolysis**, v. 16, n. 1–2, p. 17–20, 2003.

JENKINS, P. V.; O'DONNELL, J. S. ABO blood group determines plasma von Willebrand factor levels: a biologic function after all? **Transfusion**, v. 46, n. 10, p. 1836–1844, 2006.

JOHNSON, E. D.; SCHELL, J. C.; RODGERS, G. M. The D-dimer assay. **American journal of hematology**, v. 94, n. 7, p. 833–839, 2019.

KHIALANI, D.; ROSENDAAL, F.; VLIEG, A. VAN H. Hormonal contraceptives and the risk of venous thrombosis. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 46, n. 08, p. 865–871, 2020.

KLUFT, C. et al. Pro-inflammatory effects of oestrogens during use of oral contraceptives and hormone replacement treatment. **Vascular pharmacology**, v. 39, n. 3, p. 149–154, 2002.

KOFOLE, Z.; HAILE, D.; SOLOMON, Y. Fasting blood glucose, blood pressure and body mass index among combined oral contraceptive users in Chencha town Southern Ethiopia, 2019. **Frontiers in global women's health**, v. 4, 2023.

KUJOVICH, J. L. Factor V Leiden thrombophilia. **Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics**, v. 13, n. 1, p. 1–16, 2011.

LAVASSEUR, C. et al. Hormonal therapies and venous thrombosis: Considerations for prevention and management. **Research and practice in thrombosis and haemostasis**, v. 6, n. 6, p. e12763, 2022.

LECUT, C. et al. Quelle place pour le test de génération de thrombine au sein du laboratoire de biologie clinique ? **Ann Biol Clin**, v. 73, n. 2, 2015.

LEVI, M.; MIDDELDORP, S.; BÜLLER, H. R. Oral contraceptives and hormonal replacement therapy cause an imbalance in coagulation and fibrinolysis which may explain the increased risk of venous thromboembolism. **Cardiovascular research**, v. 41, n. 1, p. 21–24, 1999.

LI, J.-J.; FANG, C.-H. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular diseases. **Medical hypotheses**, v. 62, n. 4, p. 499–506, 2004.

LIDEGAARD, Ø. et al. Thrombotic stroke and myocardial infarction with hormonal contraception. **The New England journal of medicine**, v. 366, n. 24, p. 2257–2266, 2012.

LIPE, B.; ORNSTEIN, D. L. Deficiencies of natural anticoagulants, protein C, protein S, and antithrombin. **Circulation**, v. 124, n. 14, p. e365-8, 2011.

MACFARLANE, R. G.; BIGGS, R. A thrombin generation test: the application in haemophilia and thrombocytopenia. **Journal of Clinical Pathology**, n. 6, p. 3–8, 1953.

MATSUO, T. et al. Fibrin D-dimer in thrombogenic disorders. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 26, n. 01, p. 101–107, 2000.

MOHAMED, A. B. O. et al. The effects of oral contraceptive usage on thrombin generation and activated protein C resistance in Saudi women, with a possible impact of the body mass index. **PloS one**, v. 13, n. 10, p. e0206376, 2018.

MOHAMED, A. B. O. et al. Oral contraceptive types in relation to ABO blood groups among Saudi women of different reproductive age groups and impact on venous thromboembolism. **Clinical and applied thrombosis/hemostasis**, v. 26, p. 107602962096605, 2020.

MONROE, D.; HOFFMAN, M. What does it take to make the perfect clot? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. v. 26, p. 41–48, 2006.

MORIMONT, L. et al. Combined oral contraceptives and venous thromboembolism: Review and perspective to mitigate the risk. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, 2021.

Neutrophil to lymphocyte ratio as a predictor of thyroid papillary carcinoma. **Acta Med. Mediterr**, [s.d.].

NOMURA, H. et al. Negative predictive value of d-dimer for diagnosis of venous thromboembolism. **International journal of hematology**, v. 87, n. 3, p. 250–255, 2008.

NORRIS, L. A. Blood coagulation. **Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology**, v. 17, n. 3, p. 369–383, 2003.

NOSSENT, A. Y. et al. von Willebrand factor and its propeptide: the influence of secretion and clearance on protein levels and the risk of venous thrombosis. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 4, n. 12, p. 2556–2562, 2006.

O'DONNELL, J. S. et al. Bombay phenotype is associated with reduced plasma-VWF levels and an increased susceptibility to ADAMTS13 proteolysis. **Blood**, v. 106, n. 6, p. 1988–1991, 2005.

OLSON, J. D. D-dimer. In: **Advances in Clinical Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 1–46.

PALIOGIANNIS, P. et al. Associations between the neutrophil-to-lymphocyte and the platelet-to-lymphocyte ratios and the presence and severity of psoriasis: a systematic review and meta-analysis. **Clinical and experimental medicine**, v. 19, n. 1, p. 37–45, 2019.

PARK, H. Association between oral contraceptive use and the high-sensitivity C-reactive protein level in premenopausal Korean women. **Healthcare (Basel, Switzerland)**, v. 10, n. 2, p. 361, 2022.

PENG, J. et al. Diagnostic value of peripheral hematologic markers for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A multicenter, cross-sectional study. **Journal of clinical laboratory analysis**, v. 34, n. 10, p. e23475, 2020.

PEPYS, M. B.; HIRSCHFIELD, G. M. C-reactive protein: a critical update. **The journal of clinical investigation**, v. 111, n. 12, p. 1805–1812, 2003.

PERARAMELLI, S. et al. J Direct inhibition of factor VIIa by TFPI and TFPI constructs. **Thromb Haemost**, v. 11, n. 4, p. 704–714, 2013.

PERARAMELLI, S.; ROSING, J.; HACKENG, T. M. TFPI-dependent activities of protein S. **Thrombosis research**, v. 129 Suppl 2, p. S23-6, 2012.

PFEIFER, S. et al. Combined hormonal contraception and the risk of venous thromboembolism: a guideline. **Fertility and sterility**, v. 107, n. 1, p. 43–51, 2017.

PILTONEN, T. et al. Oral, transdermal and vaginal combined contraceptives induce an increase in markers of chronic inflammation and impair insulin sensitivity in young healthy normal-weight women: a randomized study. **Human reproduction (Oxford, England)**, v. 27, n. 10, p. 3046–3056, 2012.

PUTZU, C. et al. Blood cell count indexes as predictors of outcomes in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with Nivolumab. **Cancer immunology, immunotherapy: CII**, v. 67, n. 9, p. 1349–1353, 2018.

REZENDE, M. S. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. **Revista Médica de Minas Gerais**, p. 534–553, 2010.

ROACH, R. E. J. et al. Combined oral contraceptives: the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. **The Cochrane library**, v. 2018, n. 3, 2015.

RODGERS, G. M.; MAHAJERIN, A. Antithrombin therapy: Current state and future outlook. **Clinical and applied thrombosis/hemostasis**, v. 29, 2023.

RODRIGUES, E. S. et al. **Novos conceitos sobre a fisiologia da hemostasia. Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. Três Corações: [s.n.].

ROSING, J. et al. Oral contraceptives and venous thrombosis: different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. **British journal of haematology**, v. 97, n. 1, p. 233–238, 1997

ROSING, J. et al. Low-dose oral contraceptives and acquired resistance to activated protein C: a randomised cross-over study. **Lancet**, v. 354, n. 9195, p. 2036–2040, 1999.

ROSING, J. et al. Protein S is a cofactor for tissue factor pathway inhibitor. **Thrombosis research**, v. 122, p. S60–S63, 2008.

SCHINK, T. et al. Use of combined oral contraceptives and risk of venous thromboembolism in young women: a nested case-control analysis using German claims data. **BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology**, v. 129, n. 13, p. 2107–2116, 2022.

SHANMUGASUNDARAM, U. et al. Effects of the levonorgestrel-releasing intrauterine device on the immune microenvironment of the human cervix and endometrium. **American journal of reproductive immunology**, v. 76, n. 2, p. 137–148, 2016.

SHARMA, P. et al. Cervico-vaginal inflammatory cytokine alterations after intrauterine contraceptive device insertion: A pilot study. **PloS one**, v. 13, n. 12, p. e0207266, 2018.

SHAW, J. R. et al. Thrombin generation, bleeding and hemostasis in humans: Protocol for a scoping review of the literature. **PloS one**, v. 18, n. 11, p. e0293632, 2023.

SHOBOKSHI, A.; SHAARAWY, M. Cervical mucus granulocyte macrophage colony stimulating factor and interleukin-2 soluble receptor in women using copper intrauterine contraceptive devices. **Contraception**, v. 66, n. 2, p. 129–132, 2002.

SHUFELT, C. L.; BAIREY MERZ, C. N. Contraceptive hormone use and cardiovascular disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 53, n. 3, p. 221–231, 2009.

SITRUK-WARE, R. Hormonal contraception and thrombosis. **Fertility and sterility**, v. 106, n. 6, p. 1289–1294, 2016.

TCHAIKOVSKI, S. N. et al. Resistance to activated protein C and impaired TFPI activity in women with previous hormone-induced venous thromboembolism. **Thrombosis research**, v. 207, p. 143–149, 2021.

TRIPODI, A. Usefulness of thrombin generation. **Hamostaseologie**, v. 40, n. 4, p. 509–514, 2020.

URANO, T. et al. Recognition of plasminogen activator inhibitor type 1 as the primary regulator of fibrinolysis. **Current drug targets**, v. 20, n. 16, p. 1695–1701, 2019.

VAN ROOIJEN, M. et al. Treatment with combined oral contraceptives induces a rise in serum C-reactive protein in the absence of a general inflammatory response: *Combined oral contraceptives and C-reactive protein*. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 4, n. 1, p. 77–82, 2006.

VAN VLIET, H. A. A. M. et al. The effect of the levonorgestrel-releasing intrauterine system on the resistance to activated protein C (APC). **Thrombosis and haemostasis**, v. 101, n. 4, p. 691–695, 2009.

VAN VLIJMEN, E. F. W. et al. Combined oral contraceptives, thrombophilia and the risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. **Journal of thrombosis and haemostasis: JTH**, v. 14, n. 7, p. 1393–1403, 2016.

WANG, R.-H. et al. The clinical value of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), systemic immune-inflammation index (SII), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and systemic inflammation response index (SIRI) for predicting the occurrence and severity of pneumonia in patients with intracerebral hemorrhage. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1115031, 2023.

WU, Y.; LU, Y.; ZHANG, J. Thrombin generation assay: the present and the future. **Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis**, v. 34, n. 1, p. 1–7, 2023.

XIA, Y. et al. Systemic immune inflammation index (SII), system inflammation response index (SIRI) and risk of all-cause mortality and cardiovascular mortality: A 20-year follow-up cohort study of 42,875 US adults. **Journal of clinical medicine**, v. 12, n. 3, 2023.

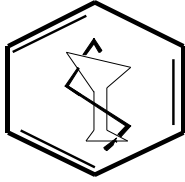
XIU, J. et al. The aggregate index of systemic inflammation (AISI): a novel predictor for hypertension. **Frontiers in cardiovascular medicine**, v. 10, p. 1163900, 2023.

YANG, A.-P. et al. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. **International immunopharmacology**, v. 84, n. 106504, p. 106504, 2020.

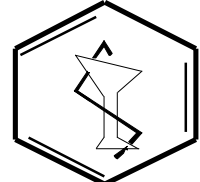
YARMOLINSKY, J. et al. Plasminogen activator inhibitor-1 and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 17714, 2016.

ZAGO, MA, FALCÃO, RP, PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. 1^a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2013.

ZINELLU, A. et al. Blood cell count derived inflammation indexes in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. **Lung**, v. 198, n. 5, p. 821–827, 2020.

ANEXO 1**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Projeto de Pesquisa **“TESTES DE GERAÇÃO DE TROMBINA: FOCO NO MECANISMO DA ANTICOGULAÇÃO NATURAL EM JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS E DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS”**.

Prezada Jovem/Sra.,

A pesquisa que você está sendo convidada a participar como voluntária é um estudo científico que tem como objetivo avaliar alguns parâmetros da coagulação do sangue em mulheres jovens em uso de contraceptivos orais (CO) ou Dispositivo Intrauterino (DIU) por mais que 6 (seis) meses.

Considerando-se a frequência quanto ao uso de COs e DIU por um grande contingente de mulheres em idade fértil, torna-se extremamente necessária a ampliação dos conhecimentos (notadamente na população brasileira), a respeito dos mecanismos que envolvem os distúrbios hemostáticos que favorecem eventos trombóticos decorrentes do uso de hormônios.

Nesta pesquisa, cada participante deverá responder a um questionário, que será aplicado pela equipe da pesquisa, e deverá doar uma única amostra de sangue venoso, na qual serão realizados vários exames laboratoriais gratuitos, cujos resultados poderão ser encaminhados aos participantes deste estudo, se houver interesse.

A coleta de sangue venoso inclui um pequeno risco de acidente de punção, representado, principalmente por extravasamento sangüíneo subcutâneo de pequena gravidade, que pode resultar em leve dor localizada e formação de pequeno hematoma. Para minimizar este risco, a coleta de sangue será realizada em local adequado, por um profissional farmacêutico ou biomédico, com comprovada capacidade técnica e experiência. Na coleta de 15 mL de sangue será utilizado material descartável de boa qualidade (agulhas e tubos a vácuo), visando o êxito do procedimento.

Serão armazenadas amostras de sangue e de DNA extraídas do sangue coletado, por um período de cinco anos, no Banco de Material Biológico do departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia. Essas amostras poderão ser eventualmente utilizadas em futuras análises para avanços científicos quanto ao uso de contraceptivos orais e DIU.

O nome da participante e, também, os resultados dos exames serão mantidos em segredo e privacidade, sob a responsabilidade da equipe de pesquisadores. Os resultados serão apresentados em reuniões clínicas, nos setores da instituição ligados ao estudo ao final do trabalho e estarão disponíveis inclusive para as participantes. Este projeto visa também publicação dos resultados em revistas especializadas e dissertação de mestrado.

Não haverá despesas pessoais para a paciente, ficando o ônus (material, recurso humano, despesa com laboratório) para o patrocinador, também não haverá compensação financeira pela sua participação, nem remuneração financeira das pesquisadoras, cujo interesse é apenas científico.

Caso você não queira participar da pesquisa, não haverá qualquer prejuízo no seu tratamento ou na assistência recebida pelo seu médico. Para qualquer dúvida sobre esta pesquisa você deverá entrar em contato, por telefone, com as pessoas responsáveis pela mesma, cujos nomes estão relacionados a seguir:

- Profa Maria das Graças Carvalho – Tel: (31) 3409-6881
Professora Titular, aposentada e voluntária do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Assinatura: _____

- COEP – Comitê de Ética em Pesquisa: Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar - Sala 2005, Campus Pampulha, BH, MG. Tel: 3409-4592.

Agradecemos pela sua valiosa participação!

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que, após convenientemente esclarecida pelas pesquisadoras e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar como voluntária do projeto de pesquisa **“TESTES DE GERAÇÃO DE TROMBINA: FOCO NO MECANISMO DA ANTICOGULAÇÃO NATURAL EM JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS E DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS”**, e autorizo a coleta de 15 mL de sangue venoso, o armazenamento do mesmo e de amostras de DNA para eventuais futuras análises sobre o mecanismo de coagulação do sangue em jovens usuárias de contraceptivo oral e DIU. e que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

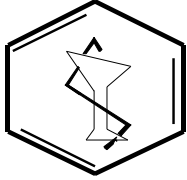
Nome: _____

Identidade: _____

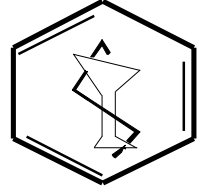
Assinatura: _____ Data: ____/____/____

ANEXO 2

FICHA CLÍNICA DAS PARTICIPANTES



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS



FICHA CLÍNICA

PROJETO DE PESQUISA: “TESTES DE GERAÇÃO DE TROMBINA: FOCO NO MECANISMO DA ANTICOGULAÇÃO NATURAL EM JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS E DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS”.

PRÉ-PROJETO DE PESQUISA APRESENTADO AO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS DA UFMG

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MARIA DAS GRAÇAS CARVALHO-UFMG

COORIENTADORA: DRA. RITA CAROLINA FIGUEIREDO DUARTE-BIOCLIN-MG

COLABORADORA: MSc. DANIELLA ARAÚJO – HUNA/SP; DEPTO. COMPUTAÇÃO/UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE FARMÁCIA

JUNHO/2023

I – IDENTIFICAÇÃO:

1.Nome: _____

2.Data de nascimento: ____/____/____

3.Endereço: _____

4.Telefone: _____ 5. CEP: _____

6.Data da entrevista/coleta de sangue: ____/____/____ 7.Jejum: _____

II – DADOS DEMOGRÁFICOS:

1.Sexo: Feminino

2.Estado Civil: () solteira () casada () viúva () separada () divorciada

3.Tabagista: () Não () Sim 4.Peso: 5. Altura: 6. IMC:

7..Doenças/distúrbios:

() Portador de trombofilia (FV Leiden, Mutante da Protrombina, Anticoagulante lúpico, outras....) – Se sim, especificar:

- () Hipertensão arterial () Asma, enfisema () Doença renal
 () Doença hepática () Diabetes mellitus () Neoplasias ()
 Doenças da tireóide () Tromboembolismo venoso (pessoal ou familiar de 1.grau)
 () Ciclo menstrual regular () Outras: _____

8.. Cirurgias prévias e infecções recentes (menos de 3 meses) ()

9. Diagnóstico de dislipidemia prévia: () Não () Sim

10. Uso de contraceptivo oral () Se sim, qual? _____ Dose:
 Quando iniciou o uso?

11. Uso de DIU (). Se sim, especificar _____
 Quando iniciou o uso?

12. Outros medicamentos prescritos em uso e dose:

13. Observações:

Nota das pesquisadoras: as jovens não em uso de CO ou de DIU e que atenderem os critérios de inclusão constituirão o grupo CONTROLE.

Anexo 3

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TESTES DE GERAÇÃO DE TROMBINA: FOCO NO MECANISMO DA ANTICOGULAÇÃO NATURAL EM JOVENS MULHERES USUÁRIAS OU NÃO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS E DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS

Pesquisador: Maria das Graças Carvalho

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 73170023.1.0000.5149

Instituição Proponente: Universidade Federal de Minas Gerais

Patrocinador Principal: CONS NAC DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.428.396

Apresentação do Projeto:

O projeto trata-se de um estudo de mestrado, para avaliar o perfil hemostático de mulheres jovens em uso ou não (controles) de contraceptivos orais ou dispositivos intra-uterinos (DIU), com liberação de levonorgestrel, com foco principalmente no mecanismo de anticoagulação natural, por meio da medida da geração de trombina em diferentes condições experimentais e de componentes deste sistema, além do perfil hematológico por meio de parâmetros do hemograma e índices derivados de seus parâmetros. Considerando-se a frequência quanto ao uso de Contraceptivos orais (Cos) e e dispositivo intrauterino (DIU) por um grande contingente de mulheres em idade fértil, torna-se extremamente necessária a ampliação dos conhecimentos (notadamente na população brasileira), a respeito dos mecanismos que envolvem os distúrbios hemostáticos que favorecem eventos trombóticos decorrentes do uso de hormônios nas mulheres em idade fértil, Nesse sentido, como o Teste de Geração de Trombina (TGT) é utilizado para investigação de possíveis distúrbios hemostáticos, o estudo em pauta tem como objetivo aplicar o TGT no contexto da hipercoagulabilidade. Em outras palavras, espera-se que o TGT, técnica capaz de avaliar o mecanismo hemostático como um todo, seja adequada e útil para investigar nestas jovens mulheres alterações hemostáticas que reflitam possíveis disfunções endoteliais, ativação de plaquetas e de fatores de coagulação, bem como defeitos na anticoagulação natural provocados por fatores adquiridos, como o uso de hormônios.

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

As hipóteses a serem testadas pelos pesquisadores são: a) o perfil hematológico e o grupo sanguíneo podem influenciar o perfil hemostático avaliado pelo TGT com e sem adição de PCa e TM?. b) a competência do sistema da anticoagulação natural diminui em mulheres jovens em uso de COs ou DIU, cuja alteração poderia ser contrabalançada por outros fatores tais como o perfil de células sanguíneas e/ou do grupo sanguíneo?.

Como metodologia os autores propoem que serão recrutadas um total de 120 mulheres jovens, na faixa de 20 a 35 anos, e distribuídas em três subgrupos, a saber: a) 40 mulheres em uso de COs (casos) nos últimos seis meses, b) 40 mulheres em uso de DIU com liberação de levonorgestrel (casos) nos últimos seis meses e c) 40 mulheres não em uso de COs ou DIU (controles), nos últimos seis meses selecionadas na UFMG e na comunidade em geral, após concordarem em participar do estudo e responderem questionário específico, contendo dados demográficos e clínicos. Todas serão avaliadas quanto aos critérios de inclusão e exclusão. Amostras de sangue serão coletadas por punção venosa usando agulha de 19G a 21G., seguindo os procedimentos habituais. Serão obtidos dois tubos de 5ml de sangue total em citrato de sódio (proporção 9:1), e 5mL de sangue total em EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). A avaliação do sistema de anticoagulação natural será realizada com o PPP de cada participante por meio do TGT, na presença e ausência da PCa, utilizando alta concentração de FT (PPP Reagent High). A concentração de PCa a ser utilizada deve ser determinada previamente em um pool de plasmas normal (controle), a qual é capaz de inibir cerca de 90% da trombina gerada neste, em comparação ao mesmo pool não acrescido de PCa, em testes realizados nas mesmas condições experimentais. As amostras coletadas em EDTA serão analisadas no contador automatizado marca Horiba, modelo YumizenH500, o qual realizará o hemograma, ou seja, a contagem dos elementos celulares do sangue e a contagem diferencial de leucócitos, além da taxa de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos (MCV, MCH, MCHC e RDW) e os índices plaquetários (MPV e PDW).

Como Critério de Inclusão os pesquisadores informam que as participantes do subgrupo de “Casos” deverão estar em uso de COs ou DIU com liberação de levonorgestrel nos últimos seis meses, enquanto aquelas que não estão em uso, também nos últimos seis meses, comporão o subgrupo “Controle”. Todas as participantes deverão preencher o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e um questionário específico. E os critérios de exclusão serão excluídas do estudo as

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 6.428.396

jovens com idade inferior a 20 anos e superior a 35 anos, com menos de seis meses em uso de COs ou DIU, grávidas, lactantes, ou portadores de doenças ou condições que possam alterar os parâmetros hemostáticos (doenças crônicas como diabetes mellitus, hipertensão, doenças renal, cardíaca e hepática, infecções ativas tais como HIV, hepatite e outras), ou ainda uso de medicamentos que possam interferir de alguma forma no perfil hemostático, tais como antiagregantes, anticoagulantes e anti-inflamatórios. A exclusão das doenças e ou condições, além de uso de medicamentos acima citados será realizada por autorrelato. Portadoras com história pessoal ou familiar de fatores trombofílicos (tais como fator V Leiden e mutante da protrombina) também serão excluídas. Jovens que não preencherem o termo de consentimento livre e esclarecido e/ou o questionário também serão excluídas do estudo.

O projeto conta com recursos já disponíveis no Laboratório de Hematologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG (ACT/FAFAR/UFMG) - projeto de número APQ-03295/17, prorrogado pela FAPEMIG até 11 de julho de 2024 - para realização dos ensaios previstos, com exceção do RABTM -50ug- Rabbit Lung Thrombomodulin (Haemtec)

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores informam que o objetivo primário da pesquisa é Avaliar o perfil hemostático de mulheres jovens em uso ou não (controles) de contraceptivos orais ou dispositivos intra-uterinos (DIU), com liberação de levonorgestrel, com foco principalmente no mecanismo de anticoagulação natural, por meio da medida da geração de trombina em diferentes condições experimentais e de componentes deste sistema, além do perfil hematológico por meio de parâmetros do hemograma e índices derivados de seus parâmetros. Também, os objetivos secundários são: a) Realizar os ensaios de geração de trombina na presença e na ausência de PCa e de TM, investigar se há concordância entre os resultados, compará-los entre si e com o grupo controle; b) Dosar os níveis plasmáticos de PC e de PS, além do dímero D; c) Correlacionar os dados dos marcadores hemostáticos com dados de exames de rotina como hemograma e índices derivados deste, além do grupo sanguíneo (Classificação ABO) e d) Correlacionar todos os dados obtidos com o tipo de método contraceptivo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos que os pesquisadores esperam encontrar estão relacionados a punção venosa para coleta

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

Continuação do Parecer: 6.428.396

do sangue. E entre os benefícios, espera-se que os dados que serão obtidos poderão ser úteis para expandir a possível aplicação do TGT, em diferentes condições experimentais, bem como um maior conhecimento acerca do impacto do uso de diferentes métodos contraceptivos (COs e DIU) sobre o sistema hemostático, cujos resultados poderão ser úteis para nortear a tomada de decisão na prescrição de diferentes hormônios como contraceptivos em mulheres jovens. Ainda, o possível aumento da ativação da coagulação atribuída ao uso de hormônios sugere que o uso destes medicamentos deva ser revisto em mulheres com risco aumentado de aterosclerose e outros fatores de risco cardiovascular. Por fim, sob o ponto de vista de formação de pessoal qualificado e de produção de conhecimento, espera-se que o desenvolvimento do presente estudo venha possibilitar os seguintes resultados: a) Conclusão do mestrado de Ana Paula de Jesus Souza, aluna regularmente matriculada no PPGACT; b) Apresentação de trabalhos científicos, na forma de pôster, em eventos da área; c) Publicação de dois artigos em revistas especializadas da área, preferencialmente, internacionais.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem sua relevância na área da saúde e será formadora de recursos humanos por estar envolvida em um trabalho de dissertação de mestrado. Os pesquisadores apresentaram os documentos anexados, além daqueles já constantes na Plataforma Brasil:

_PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2137871.pdf

_CartaRespostaCEPUFGMG.pdf

_FICHA CLINICA DAS PARTICIPANTES.pdf

_TCLE set 2023.pdf

_ProjetoDissertacaoAnaPaula.pdf

Os pesquisadores substituíram o projeto encaminhado inicialmente na primeira versão, por uma mais atualizadas com as recomendações atendidas

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Na carta resposta ao Parecer 6.275.560 do referido projeto, as pesquisadoras descreveram em itens todas as recomendações sugeridas pelo parecerista. Porém ainda são sugeridas algumas recomendações no TCLE e no Projeto propriamente dito.

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 6.428.396

Recomendações:

- Inserir no TCLE espaço para rubricas do pesquisador e do voluntário em todas as folhas, bem como o telefone de contato de todos os envolvidos na pesquisa e o horário de funcionamento do CEP.
- Excluir do texto das "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2137871" e do "ProjetoDissertacaoAnaPaula" que o TCLE e a Ficha CLínica das Participantes ainda estão sendo elaborados
- inserir TCLE como documento anexo do projeto

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

SMJ, sou a favor da aprovação do projeto após realização das recomendações sugeridas

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2137871.pdf	29/09/2023 11:08:32		Aceito
Outros	CartaRespostaCEPUFG.pdf	29/09/2023 11:07:52	Maria das Graças Carvalho	Aceito
Outros	FICHA CLINICA DAS PARTICIPANTES.pdf	29/09/2023 11:06:22	Maria das Graças Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEset2023.pdf	29/09/2023 11:05:33	Maria das Graças Carvalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDissertacaoAnaPaula.pdf	29/09/2023 11:05:06	Maria das Graças Carvalho	Aceito
Outros	ParecerConsustanciadoComissaodePesquisado.pdf	13/08/2023 18:38:12	Maria das Graças Carvalho	Aceito
Folha de Rosto	assFolhadeRosto.pdf	02/07/2023	Maria das Graças	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 6.428.396

Folha de Rosto	assFolhadeRosto.pdf	17:04:08	Carvalho	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	02/07/2023 17:02:12	Maria das Graças Carvalho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 16 de Outubro de 2023

Assinado por:
Corinne Davis Rodrigues
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antonio Carlos, 6627 2º. Andar Sala 2005 Campus Pampulha

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br