

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

PRISCILA SAMARA SÉRGIO MOREIRA

**SISTEMA FIBRINOLÍTICO: USO DE VARFARINA *VERSUS* RIVAROXABAN EM
PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL.**

**Belo Horizonte
2015**

PRISCILA SAMARA SÉRGIO MOREIRA

**SISTEMA FIBRINOLÍTICO: USO DE VARFARINA *VERSUS* RIVAROXABAN EM
PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL.**

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 para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria das Graças Carvalho.

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a Ana Paula Lucas Mota.

Colaborador: Prof. Dr. Helton José dos Reis.

Belo Horizonte

2015

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu refúgio e fortaleza, por me sustentar incessantemente com sua infinita graça e bondade e por prover todas as coisas em momento oportuno.

Aos meus pais, José Custódio e Maria Márcia, meus maiores incentivadores e exemplos de vida. Agradeço pelo amor incondicional e pelo suporte em todo o tempo.

À minha amiga Fernanda, pelo carinho e pela dedicação em oferecer sempre amizade sincera e encorajamento nos momentos de adversidade. Obrigada por me acolher como irmã e me apoiar em cada etapa deste trabalho.

Ao meu irmão Filipe e à minha cunhada Marcela, pelo carinho, compreensão e por acreditarem em mim.

Aos demais amigos e familiares que torceram por mim.

À minha orientadora, professora Maria das Graças Carvalho, pelo incentivo e pelos ensinamentos valiosos que proporcionaram a concretização desse sonho. Agradeço por ser sempre um exemplo de dedicação e humildade.

À minha co-orientadora, professora Ana Paula Lucas Mota, pelo apoio e pelas preciosas sugestões que contribuíram para enriquecer o trabalho.

À professora Cláudia Natália Ferreira, pela amizade, pelo incentivo e por me acolher gentilmente neste projeto.

À colega Rita, pela companhia, disposição e generosidade em me ajudar em cada etapa deste trabalho.

Aos demais colegas e funcionários do laboratório de Hematologia Clínica da Faculdade de Farmácia da UFMG, pela convivência e pelo suporte.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFMG.

Aos médicos cardiologistas colaboradores do trabalho, Dr. Estevão Lanna e Dr. Francisco Rezende, pelo empenho na seleção de pacientes.

Aos pacientes, que contribuíram voluntariamente para este estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo investimento financeiro no desenvolvimento deste trabalho.

RESUMO

A Fibrilação Atrial (FA), uma arritmia cardíaca que apresenta alterações do sistema hemostático, constitui fator de risco para ocorrência de acidente vascular cerebral (AVC). Tradicionalmente, a terapia mais efetiva na prevenção de AVC em tais pacientes tem sido a anticoagulação oral com inibidores da vitamina K, em especial a varfarina, cujos inconvenientes e efeitos adversos têm levado à sua substituição por “anticoagulantes orais diretos”, como o inibidor do fator Xa. Este estudo preliminar tem como objetivo realizar uma abordagem comparativa entre os efeitos hemostáticos da varfarina e do rivaroxaban, um inibidor direto do fator Xa, sobre o sistema fibrinolítico. Foram estudados pacientes com FA distribuídos em dois grupos, a saber, pacientes em uso de varfarina (n=12) ou em uso de rivaroxaban (n=28), além de um grupo controle (n=18). Os parâmetros hemostáticos avaliados foram TP/RNI, fibrinogênio, F1+2, dímero-D, t-PA, TAFI e PAI-1. O TP/RNI apresentou resultados mais elevados para ambos os grupos de pacientes em relação ao grupo controle. Ao contrário, para o F1+2, pacientes em uso de ambos os anticoagulantes orais apresentaram níveis reduzidos em relação ao controle, sendo que os em uso de varfarina apresentaram os menores valores. Para o TAFI, os pacientes em uso de varfarina ou rivaroxaban apresentaram valores mais elevados em relação ao grupo Controle. Entre os três grupos não se observou diferença para o fibrinogênio, dímero-D, t-PA e PAI-1. Os dados analisados em conjunto permitem concluir que o uso de anticoagulante oral direto (anti-fator Xa) diminuiu os níveis de F1+2, indicando menor geração de trombina *in vivo*, prolongando o TP e aumentando a RNI, porém de forma menos acentuada que o uso da tradicional varfarina. Quanto ao sistema fibrinolítico, o TAFI foi o único parâmetro que se mostrou diferente entre os grupos, com níveis mais elevados para os grupos com varfarina e rivaroxaban em relação ao controle. A análise dos resultados em função do tempo compreendido entre a administração do rivaroxaban e a coleta de sangue, revelou que apenas o TP/RNI sofre maior efeito até 12 horas após ingestão da droga, caindo para valores próximos aos normais nas horas subsequentes, antes da próxima dose. Este dado vem reforçar a potencialidade do uso do TP para monitorar o uso de rivaroxaban em situações excepcionais ou de alto risco.

Palavras-chave: Fibrilação atrial; sistema fibrinolítico; rivaroxaban; varfarina.

ABSTRACT

Atrial fibrillation (AF), an arrhythmia with hemostatic system changes, is a risk factor for the occurrence of stroke. Traditionally, the most effective therapy in the prevention of stroke in such patients has been oral anticoagulation with vitamin K inhibitors, particularly warfarin, whose disadvantages and adverse effects have led to their replacement by "direct oral anticoagulants", as factor X inhibitor. This preliminary study aims to conduct a comparative approach between the hemostatic effects of warfarin and rivaroxaban, a direct factor Xa inhibitor, on the fibrinolytic system. We studied patients with AF distributed into two groups, namely, patients using either warfarin (n = 12) or rivaroxaban (n = 28), and a control group (n = 18). Hemostatic parameters studied were PT / INR, fibrinogen, F1 + 2, D-dimer, t-PA, TAFI and PAI-1. The PT / INR had higher results for both patient groups compared to the control group. Contrary to the F1 + 2, patients using both oral anticoagulants showed reduced levels compared to the control, and the use of warfarin had the lowest values. For TAFI, patients on warfarin use or rivaroxaban showed higher values compared to the control group. Among the three groups there was no difference for the fibrinogen, D-dimer, t-PA and PAI-1. The data taken together lead to the conclusion that the use of direct oral anticoagulant (anti-factor Xa) decreased the F1 + 2 levels, indicating lower generation of thrombin in vivo, prolonging the TP and increasing INR, but in a less sharp way compared to the use of the traditional warfarin. Concerning to the fibrinolytic system, TAFI was the only parameter showing difference between groups, with higher levels in the groups under warfarin or rivaroxaban treatment compared to the control. A data analysis, as a function of time, between rivaroxaban administration and blood collection, revealed that only the PT / INR suffer greater effect up to 12 hours after the drug intake, dropping to levels close to normal in the subsequent hours before next dose. This finding reinforces the potential of TP to monitor use of rivaroxaban in exceptional or high-risk situations.

Keywords: Atrial fibrillation; fibrinolytic system; rivaroxaban, warfarin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação esquemática do modelo da coagulação baseado em superfícies celulares.	26
Figura 2	– Representação esquemática simplificada do sistema fibrinolítico.	29
Figura 3	– Aplicabilidade de testes rotineiros de coagulação, TP e TTPa, e do ensaio de atividade de anti-fator Xa, para concentrações de rivaroxaban dentro, abaixo e acima do intervalo terapêutico.	37
Figura 4	– Tempo de protrombina no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.	51
Figura 5	– Atividade de protrombina no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.	51
Figura 6	– RNI no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.	52
Figura 7	– Níveis plasmáticos de F1+2 no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.	53
Figura 8	– Níveis plasmáticos de TAFI no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.	53
Figura 9	– Tempo de protrombina de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento.	55
Figura 10	– Atividade de protrombina, em percentual, de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento.	56
Figura 11	– RNI de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento.	56

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADROS

Quadro 1	Parâmetros e respectivas pontuações segundo os escores CHADS₂ e CHA₂DS₂-VAsc.....	21
-----------------	---	-----------

TABELAS

Tabela 1 –	Características clínicas dos participantes do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.....	47
Tabela 2 –	Caracterização bioquímica do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.....	48
Tabela 3 –	Parâmetros hemostáticos do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.....	50
Tabela 4 –	Parâmetros hemostáticos no grupo em uso de rivaroxaban de acordo com o tempo entre a administração do medicamento e a coleta do sangue.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

α_2 -AP – α_2 -antiplasmina

ALT - Alanina aminotransferase

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AST – Aspartato aminotransferase

AT – Antitrombina

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AVKs – Antagonistas da vitamina K

BCSH - *British Committee for Standards in Haematology*

CCP - Concentrado de Complexo Protrombínico

CID – Coagulação intravascular disseminada

COEP – Comitê de ética em pesquisa

CV – Cardioversão

D-Di – Dímero-D

ECT – *Ecarin clotting time*

EDTA – Ácido Etilenodiaminotetracético

EIT – Episódio isquêmico transitório

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

ESC – *European Society of Cardiology*

EUA – Estados Unidos da América

F1+2 – Fragmento 1+2 da protrombina

FA – Fibrilação atrial

FT – Fator tissular (FT)

GGT – Gama glutamiltransferase

HAS-BLED – *Hypertension, Abnormal renal/liver function, Stroke, Bleeding history or predisposition, Labile INR, Elderly, Drugs/alcohol concomitantly*

HDL – Lipoproteína de alta densidade

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ISI – Índice de sensibilidade internacional

ISTH – *International Society on Thrombosis and Haemostasis*

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

NOAC – *New oral anticoagulant*

PAI-1 – Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1

PAI-2 – Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 2
PC – Proteína C
PCR – Proteína C reativa
PDF – Produtos de degradação da fibrina
P-gp – Glicoproteína P
PS – Proteína S
RE-LY – Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy
RNI – Relação Normalizada Internacional
ROCKET-AF – *The Rivaroxaban Once Daily Oral Direct Factor Xa Inhibition Compared with Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation*
SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia
t-PA – Ativador tecidual do plasminogênio
TAFI – Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina
TAFIa – TAFI ativado
TEV – Tromboembolismo venoso
TFPI – Inibidor da via do fator tissular
TP – Tempo de protrombina
TT – Tempo de trombina
TTPa – Tempo de tromboplastina parcial ativada
u-PA – Ativador do plasminogênio do tipo uroquinase
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Fibrilação atrial	16
2.1.1	<u>Esquemas de estratificação de risco e recomendações para a anticoagulação oral</u>	19
2.2	Hemostasia e coagulação	22
2.2.1	<u>Coagulação sanguínea</u>	22
2.3	Sistema fibrinolítico	27
2.3.1	<u>Fibrinólise e produção de Dímero-D</u>	30
2.4	Anticoagulantes orais	30
2.4.1	<u>Varfarina</u>	30
2.4.2	<u>Anticoagulantes orais diretos</u>	32
2.4.3	<u>Controle laboratorial da anticoagulação oral</u>	34
3	OBJETIVOS	38
3.1	Geral	38
3.2	Específicos	38
4	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1	Considerações éticas	39
4.2	Casuística	39
4.3	Grupo caso	39
4.3.1	<u>Critérios de inclusão</u>	40
4.3.2	<u>Critérios de exclusão</u>	40
4.4	Grupo controle	41
4.4.1	<u>Critérios de inclusão e exclusão</u>	41
4.5	Amostras biológicas	41
4.6	Delineamento experimental	41
4.7	Métodos	42
4.7.1	<u>Tempo de protrombina (TP) e RNI</u>	42
4.7.2	<u>Fibrinogênio</u>	42
4.7.3	<u>Fragmento 1+2 da protrombina (F1+2)</u>	43
4.7.4	<u>Ativador tecidual do plasminogênio (t-PA)</u>	43
4.7.5	<u>Dímero D (D-Di)</u>	43

4.7.6	<u>Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI)</u>	44
4.7.7	<u>Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1)</u>	44
4.7.8	<u>Caracterização bioquímica</u>	44
4.8	Análise estatística	45
5	RESULTADOS	47
5.1	Características clínicas dos participantes	47
5.2	Caracterização bioquímica dos participantes	48
5.3	Parâmetros hemostáticos	49
5.4	Comparação dos parâmetros hemostáticos no grupo em uso de rivaroxaban em função do tempo decorrido entre a última administração do medicamento e o momento de coleta.	54
6	DISCUSSÃO	58
6.1	Características clínicas dos participantes	58
6.2	Caracterização bioquímica dos participantes	59
6.3	Parâmetros hemostáticos	59
6.4	Considerações finais	65
7	CONCLUSÃO	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
	ANEXO A	80
	APÊNDICE A	81
	APÊNDICE B	83

1 INTRODUÇÃO

A Fibrilação Atrial (FA) é a arritmia cardíaca sustentada mais comum na prática clínica, atingindo, em 2010, uma população estimada de 33,5 milhões de pacientes em todo o mundo (CHUGH *et al*, 2014). Sua ocorrência está associada a significativa morbi-mortalidade da população, bem como a importantes implicações econômicas em saúde, pois resulta em redução do *status* funcional e da qualidade de vida do paciente, progressiva disfunção cardiovascular e complicações tromboembólicas (ANDRADE, 2014).

A prevalência de FA na população geral tem sido estimada entre 0,5% e 2%, e aumenta significativamente com a idade, alcançando cerca de 10% em indivíduos acima de 80 anos (FEINBERG, 1995 apud KODANI, 2012; GO, 2001; MAJEED, 2001; STEWART, 2001). No Brasil, há carência de uma caracterização epidemiológica abrangente sobre a doença, mas um estudo de base populacional reportou prevalência de 2,4% para a FA, em indivíduos com idade igual ou superior a 65 anos (KAWABATA-YOSHIHARA, 2009).

Vários estudos, disponíveis, sobretudo, em países desenvolvidos, têm demonstrado indicadores de prevalência e incidência crescentes nas últimas décadas (KANDEL, 1998; MAJEED, 2001; MIYASAKA, 2006). Uma avaliação recente reunindo dados em âmbito global, denominada *The Global Burden of Disease Study*, confirmou esses achados (CHUGH, 2014). Com base na tendência ao aumento progressivo da doença, estima-se, por exemplo, que o número de adultos com FA nos Estados Unidos será cerca de 2,5 vezes maior em 2050 (GO, 2001; MIYASAKA, 2006).

À luz desse conhecimento e, tendo em vista o processo de envelhecimento populacional em curso no Brasil, espera-se um crescimento expressivo na frequência de FA na população nas próximas décadas, trazendo um grande desafio no âmbito da cardiologia. Soma-se a isso o concomitante aumento da ocorrência de outras condições crônicas – como diabetes, hipertensão, valvulopatias e insuficiência cardíaca – também relacionadas à idade, e que predispõem ao desenvolvimento de FA (ZIMERMAN *et al*, 2009).

Sabe-se que pacientes com FA apresentam alterações do sistema hemostático, que contribuem para um risco aproximadamente cinco vezes maior de ocorrência de acidente vascular cerebral (AVC). A doença é também fator de risco independente para maior gravidade e recorrência desses eventos, segundo constatado no Estudo de Framingham (WOLF *et al*, 1991; LIN *et al*, 1996). Nesse contexto, a terapia antitrombótica configura-se como parte fundamental do tratamento de pacientes com FA crônica, cujo objetivo principal é a prevenção de complicações associadas ao tromboembolismo (MORADY & ZIPES, 2012).

Tradicionalmente, a terapia mais efetiva na prevenção dos fenômenos tromboembólicos de AVC em pacientes com fibrilação atrial tem sido a anticoagulação oral com inibidores da vitamina K – também referidos como antagonistas da vitamina K (AVKs) –, em especial a varfarina. Entretanto, uma série de inconvenientes relacionados à necessidade de estrita monitoração laboratorial e à ocorrência de hemorragias no curso da anticoagulação com varfarina tem limitado sua utilização na prática clínica e incentivado sua substituição por anticoagulantes orais recentemente desenvolvidos, incluindo os inibidores diretos da trombina e os inibidores do fator Xa (AL-KATHIB *et al*, 2012).

Ressalta-se, oportunamente, que não há ainda um consenso sobre a terminologia a ser adotada para denominar a “nova” classe de anticoagulantes. Vários termos têm sido utilizados, a saber, novos anticoagulantes orais, anticoagulantes alvo-específicos, diretos, não monitorados ou não-AVKs. Diante do apelo por uma padronização, parece haver um grande número de autores que prefere a manutenção do acrônimo NOAC, já difundido na literatura e que se refere à expressão “new oral anticoagulant” (LIP, 2014; HUSTED *et al*, 2014). Entretanto, foi recentemente sugerido pela *International Society on Thrombosis and Haemostasis* (ISTH) o uso de uma designação que expressa uma característica farmacológica desses agentes, motivo pelo qual optou-se neste trabalho pela expressão “anticoagulantes orais diretos” (BARNES *et al*, 2015).

Há uma grande expectativa sobre a efetividade dessas novas drogas que, a princípio, não requerem monitoração laboratorial, podendo ser administradas em doses fixas. Por outro lado, surge também uma preocupação quanto à segurança de

sua utilização, em função da rápida duração da ação das mesmas e da ausência de antídotos específicos disponíveis. Isso se torna especialmente importante, pois não há testes padronizados e bem estabelecidos para que uma avaliação laboratorial do efeito anticoagulante dessas drogas seja feita em ocasiões necessárias, na prática médica usual (FAVALORO & LIPPI, 2012).

Desta forma, acredita-se que estudos no Brasil, delineados para obter uma maior compreensão e experiência quanto ao uso dos anticoagulantes orais diretos, são relevantes e poderão acrescentar novos conhecimentos aos já existentes em outras partes do mundo.

Diante do exposto, julgamos de grande relevância o estudo comparativo dos parâmetros hemostáticos de pacientes em uso de anticoagulantes orais diretos com aqueles em uso de varfarina. Ressalta-se aqui, especificamente, o papel do sistema fibrinolítico, que está intrinsicamente relacionado à atividade de coagulação, posto que serve à regulação desse processo, e pode ser útil para acompanhamento da terapia anticoagulante.

Com base nas considerações acima, pretende-se neste estudo preliminar realizar uma abordagem comparativa entre os dois tipos de anticoagulantes, respeitados os respectivos mecanismos de ação, no que se refere à equivalência de efeitos sobre o sistema fibrinolítico. Também se espera avaliar qual é o efeito dos mesmos sobre os inibidores deste sistema.

A avaliação dos efeitos decorrentes do uso dessas novas drogas poderá contribuir para o melhor entendimento sobre o mecanismo de regulação da hemostasia na terapia com os anticoagulantes orais diretos, bem como para o maior conhecimento da relação do sistema fibrinolítico com os demais componentes da hemostasia em indivíduos com fibrilação atrial em uso de varfarina ou rivaroxaban.

Adicionalmente, e em consonância com Tripodi (2013), deve-se também buscar maior conhecimento neste contexto, mediante a avaliação de outros testes hemostáticos de uso rotineiro nos laboratórios clínicos, como o tempo de

protrombina, em pacientes em uso de tais anticoagulantes orais diretos, uma vez que tais parâmetros podem ser extensa e variavelmente afetados por estes medicamentos.

Dessa forma, ressalta-se a importância do presente estudo, o qual busca uma avaliação global do sistema fibrinolítico, bem como de seus componentes, no contexto de uso dos anticoagulantes orais diretos. A consolidação do uso dessas drogas na prática clínica dependerá do estabelecimento de critérios de avaliação laboratorial bem definidos, que proporcionem segurança na prevenção de eventos trombóticos e baixo risco de sangramento.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fibrilação atrial

A fibrilação atrial é definida como uma taquiarritmia supraventricular, em que ocorre ativação atrial descoordenada e conseqüente contração atrial ineficaz (JANUARY *et al*, 2014). É caracterizada, ao eletrocardiograma, pela presença de ondas fibrilatórias irregulares e rápidas, que variam em amplitude, forma e frequência, e está normalmente associada a uma resposta ventricular irregular (FALK, 2001).

A FA foi originalmente identificada há vários séculos e durante muito tempo foi referida como *pulsus irregularis perpetuus*, *delirium cordis* ou “palpitações revoltosas”. A definição da doença, tal como se conhece hoje, ocorreu apenas em 1909, quando Sir Thomas Lewis registrou o traçado eletrocardiográfico de um paciente e demonstrou, pela primeira vez, que as ondas irregulares observadas correspondiam à “fibrilação das aurículas” (SILVERMAN, 1994; LIP & BEEVERS, 1995).

A classificação da doença é feita em relação à duração dos episódios de fibrilação, e é importante para o manejo clínico do paciente (JANUARY *et al*, 2014). Vários sistemas de classificação foram propostos. Segundo as Diretrizes Brasileiras de Fibrilação Atrial (ZIMERMAN *et al*, 2009), a classificação referente à FA inclui:

- (1) FA inicial, que corresponde ao diagnóstico de novos episódios;
- (2) FA paroxística, a qual termina espontaneamente e, em geral, dura menos de sete dias, podendo ou não apresentar recorrências;
- (3) FA persistente, que se mantém por período maior que sete dias e requer intervenção médica (elétrica ou farmacológica) para retorno ao ritmo sinusal;
- (4) FA permanente, que geralmente se refere a pacientes nos quais as tentativas de reversão da arritmia falharam ou decidiu-se não buscar a restauração do ritmo sinusal por quaisquer meios.

A FA pode ser denominada recorrente quando o paciente apresenta dois ou mais episódios. Outra distinção clinicamente importante diz respeito à FA não valvar ou

não reumática, caso em que o paciente não apresenta valvopatia mitral de origem reumática, prótese valvar ou histórico de valvoplastia mitral.

A FA pode ocorrer isoladamente, mas geralmente coexiste com outras doenças subjacentes, em especial cardiovasculares, que constituem fatores de risco para a arritmia e, ao mesmo tempo, aumentam o risco de complicações desta. Algumas das principais condições predisponentes à FA são: aumento da idade, diabetes mellitus, hipertensão, valvulopatias, insuficiência cardíaca congestiva, obesidade e tabagismo. A FA também pode ocorrer no contexto pós-operatório, sobretudo em casos de cirurgias cardiotorácicas (LIP, 2012).

A apresentação clínica é variável e cerca de um terço dos pacientes com FA são assintomáticos, o que dificulta o reconhecimento precoce da arritmia (CAMM, 2010). Quando presentes, os sintomas podem incluir fadiga, palpitação, dor torácica, dispneia, tontura e síncope (ZIMERMAN, 2009). A FA também pode predispor a complicações como insuficiência cardíaca, demência, AVC e/ou tromboembolismo periférico. Além disso, está relacionada a frequentes hospitalizações, sendo responsável por aproximadamente um terço de todas as internações atribuídas a arritmias (FUSTER *et al*, 2006). De acordo com Kim (2011), pacientes com fibrilação atrial são hospitalizados com uma frequência duas vezes maior que pacientes sem a doença.

A ocorrência de AVC é um desfecho clínico particularmente importante no contexto da FA. Segundo Wolf *et al* (1991), essa arritmia aumenta o risco de AVC em cinco vezes. Entretanto, considera-se que esse risco é possivelmente subestimado, tendo em vista ser esta uma arritmia comumente assintomática; ademais, esse risco varia consideravelmente entre os indivíduos e depende da coexistência de outros fatores de risco bem conhecidos, como hipertensão e insuficiência cardíaca (WOLF *et al*, 1991; ROGER *et al*, 2012).

O AVC isquêmico decorrente de FA mostrou-se também duas vezes mais propenso a ser fatal, em relação a AVCs de outra origem, além de resultar em deficiências funcionais mais graves entre os pacientes que sobrevivem (LIN *et al*, 1996).

A proporção de AVC atribuída à fibrilação atrial aumenta significativamente com a idade: cerca de 1,5% em pacientes com 50 a 59 anos, 2,8% entre 60 e 69 anos, 9,9% para a faixa etária entre 70 e 79 anos e 23,5% em idades entre 80 e 89 anos, conforme reportado pelo Estudo de Framingham (WOLF *et al*, 1991).

O acidente vascular cerebral em pacientes com FA parece ser predominantemente resultante de tromboembolismo cardiogênico (SINGER *et al*, 2008). O apêndice atrial esquerdo é considerado o principal sítio de formação de trombos, processo que depende de um complexo mecanismo e contempla alterações no endotélio vascular, no fluxo sanguíneo e na constituição do sangue. Destaca-se a ocorrência de várias alterações nos níveis de marcadores hemostáticos e de ativação plaquetária, bem como de fatores de crescimento e inflamatórios, indicando um estado de hipercoagulabilidade nesses pacientes (WATSON, 2009).

Entre esses marcadores, é notável a associação entre o aumento dos níveis de dímero-D (D-Di) e o risco de tromboembolismo. Sabe-se que o D-Di, que reflete o *turnover* de fibrina intravascular, está geralmente elevado em pacientes com FA crônica, em relação a indivíduos com ritmo sinusal e, embora apresente considerável variação interindividual, mantém-se relativamente estável durante o seguimento de pacientes com FA na ausência de eventos adversos (MAHÉ *et al*, 2002; NOZAWA *et al*, 2004). Entretanto, tem sido demonstrado que o dímero-D pode ser utilizado, em conjunto com outros fatores de risco clínicos, para prever a ocorrência de eventos tromboembólicos em casos de FA não-valvar, inclusive em pacientes sob tratamento (NOZAWA *et al*, 2006; VENE *et al*, 2003 apud WATSON, 2009). Também já foi sugerida a utilidade desse marcador para excluir o diagnóstico de trombo atrial, havendo ampla concordância entre os níveis de D-Di e o diagnóstico de trombo dado por exame de imagem (SOMLÓI, 2003).

Tendo em vista a relevância e a significativa frequência de AVC no contexto da FA, a prevenção desse evento representa um objetivo chave no manejo dos pacientes. Para tanto, institui-se a terapia antitrombótica, que rotineiramente inclui agentes anticoagulantes, como a varfarina ou os inibidores orais diretos, e/ou antiplaquetários, geralmente ácido acetilsalicílico ou clopidogrel.

A trombopprofilaxia adequada, associada ao controle de outros fatores de risco, reduz substancialmente o risco de AVC (JANUARY *et al*, 2014). Em uma meta-análise envolvendo pacientes com FA não valvar, Hart e cols. (2007) relataram redução de 64% no risco de AVC não fatal pelo uso de varfarina e de 22% pela terapia de antiagregação plaquetária com ácido acetilsalicílico, quando comparados a grupos controle. Estudos comparativos recentes têm demonstrado equivalência ou mesmo superioridade dos novos anticoagulantes, em relação à varfarina, na prevenção de AVC ou de tromboembolismo sistêmico, tanto no que se refere à eficácia quanto à segurança do tratamento (CONNOLLY *et al*, 2009; PATEL *et al*, 2011; GRANGER *et al*, 2011; BERRA, 2013).

Paralelamente à trombopprofilaxia, a conduta médica no manejo dos pacientes visa também à redução da sintomatologia, ao controle da frequência cardíaca, à restauração e manutenção do ritmo sinusal e ao controle de doenças cardiovasculares concomitantes. A abordagem de tratamento deve ser definida individualmente, de acordo com a condição do paciente (CAMM *et al*, 2010).

2.1.1 Esquemas de estratificação de risco e recomendações para a anticoagulação oral

Nas duas últimas décadas, muitos estudos têm proporcionado uma avaliação extensa, baseada em evidências, do uso das terapias antitrombóticas de prevenção de AVC em pacientes com fibrilação atrial. Tais estudos continuam em andamento com a avaliação da eficácia de uma nova geração de anticoagulantes orais, conforme revisado por You *et al* (2012).

Segundo o *American Heart Association* (JANUARY *et al*, 2014), o *American College of Chest Physicians* (YOU *et al*, 2012) e a *European Society of Cardiology* (ESC) (CAMM *et al*, 2012), as recomendações para a terapia antitrombótica de pacientes com FA não-valvar devem se basear fundamentalmente na mensuração dos fatores de risco pró-trombóticos de cada paciente, a qual determina a existência de diferentes níveis de risco entre os diferentes grupos de pacientes. Para tanto, vários esquemas de estratificação de risco para AVC e tromboembolismo foram propostos e tem sido utilizados na prática clínica.

O esquema considerado mais simples e amplamente utilizado, CHADS₂ (*Congestive heart failure, Hypertension, Age ≥75, Diabetes, Stroke [doubled]*), atribui 1 ponto para insuficiência cardíaca, hipertensão, idade ≥ 75 anos ou diabetes mellitus, e 2 pontos para AVC prévio ou episódio isquêmico transitório (EIT) (GAGE *et al*, 2001).

Foi proposto que os pacientes com uma pontuação CHADS₂ igual ou superior a 2 sejam submetidos à anticoagulação (ZIMERMAN *et al*, 2009; CAMM *et al*, 2010; YOU *et al*, 2012). Entretanto, para pacientes com escore 1 as recomendações são menos consistentes, o que reflete incerteza sobre os benefícios da terapia anticoagulante nessa população (CAMM *et al*, 2010; YOU *et al*, 2012; COPPENS *et al*, 2013). Dessa forma, uma avaliação mais detalhada do risco de AVC tem sido recentemente indicada, o que pode ser alcançado com o uso do sistema de escore CHA₂DS₂-VASc, proposto como uma versão aperfeiçoada do primeiro. Esse escore inclui três fatores de risco adicionais para AVC isquêmico: idade entre 65 e 74 anos, sexo feminino e doença vascular, definida como infarto do miocárdio ou doença arterial periférica prévios. Nesse esquema, são atribuídos 2 pontos em caso de AVC prévio, EIT ou idade ≥ 75 anos, e 1 ponto para as demais variáveis (LIP *et al*, 2010). O CHA₂DS₂-VASc tem uma faixa de pontuação mais abrangente (0 a 9), é facilmente aplicável e tem sido extensamente validado, demonstrando melhor capacidade para discriminar pacientes com risco realmente baixo de AVC (VAN STAA *et al*, 2011; CAMM *et al*, 2012; OLESEN *et al*, 2012 apud LIP, 2011; POTPARA *et al*, 2012b; COPPENS *et al*, 2013; JANUARY *et al*, 2014). As diretrizes atuais recomendam que pacientes com escore 0 não sejam submetidos a terapia antitrombótica; ao contrário, pacientes com escore maior ou igual a 2 devem receber terapia de anticoagulação oral (JANUARY *et al*, 2014; CAMM *et al*, 2012). Em casos de pontuação 1, as diretrizes europeias apresentam melhor nível de evidência para sugerir o tratamento com anticoagulante, de acordo com as características específicas de cada paciente (CAMM *et al*, 2012).

Os parâmetros e respectivas pontuações definidas pelos escores CHADS₂ e CHA₂DS₂-VASc estão resumidos no **Quadro 1**.

Quadro 1 – Parâmetros e respectivas pontuações segundo os escores CHADS₂ e CHA₂DS₂-VASc.

CHADS ₂	Escore
Insuficiência cardíaca congestiva	1
Hipertensão	1
Idade ≥ 75 anos	1
Diabetes mellitus	1
AVC ou EIT prévios	2
Escore máximo	6
CHA ₂ DS ₂ -VASc	
Insuficiência cardíaca congestiva	1
Hipertensão	1
Idade ≥ 75 anos	2
Diabetes mellitus	1
AVC ou EIT prévio	2
Doença Vascular (IM ou DAP prévios)	1
Idade entre 65 e 74 anos	1
Sexo feminino	1
Escore máximo	9
AVC: acidente vascular cerebral. EIT: episódio isquêmico transitório. IM: infarto do miocárdio. DAP: doença arterial periférica.	

Adaptado de LIP; TSE; LANE (2012).

A decisão de instituir a terapia de anticoagulação oral deve ser acompanhada de uma avaliação individual do risco de sangramento grave, especialmente intracraniano, a fim de se estabelecer os prós e contras para cada paciente (CAMM *et al*, 2012). Para tanto, tem-se utilizado o escore de risco de sangramento denominado pelo acrônimo HAS-BLED (*Hypertension, Abnormal renal/liver function, Stroke, Bleeding history or predisposition, Labile INR, Elderly, Drugs/alcohol concomitantly*), desenvolvido a partir da *Euro Heart Survey* (PISTERS *et al*, 2010). Segundo esse escore, atribui-se 1 ponto a cada fator de risco para hemorragia: pressão sistólica superior a 160 mmHg; função renal anormal definida como presença de diálise renal, transplante renal ou creatinina sérica ≥ 2,26 mg/dL; função hepática anormal definida pela ocorrência de doença hepática crônica ou alteração significativa de parâmetros bioquímicos hepáticos; AVC; história prévia de

hemorragia ou predisposição a sangramento; Relação Normalizada Internacional (RNI) instável; idade maior que 65 anos; uso concomitante de medicamentos, como antiplaquetários e anti-inflamatórios não esteroidais, ou abuso de álcool (PISTERS *et al*, 2010). Uma pontuação igual ou superior a 3 indica alto risco de hemorragia em pacientes com FA, apontando para uma maior necessidade de cautela na terapia de anticoagulação, observação do paciente em relação a eventos adversos, bem como para a tentativa de correção dos fatores de risco hemorrágicos potencialmente reversíveis. Entretanto, o escore HAS-BLED não deve ser usado por si só como critério para excluir pacientes da terapia antitrombótica (CAMM, 2012; JANUARY *et al*, 2014).

Ressalta-se que, além da avaliação dos riscos pró-trombótico e hemorrágico, vários outros fatores são considerados, como o tipo de FA do paciente, sua tolerabilidade às drogas disponíveis, o custo do tratamento, o potencial de interações farmacológicas e outras características clínicas, por exemplo, o tempo em que o paciente se mantém na faixa terapêutica quando em uso da varfarina (JANUARY *et al*, 2014).

2.2 Hemostasia e coagulação

Hemostasia é um processo fisiológico dinâmico e cuidadosamente regulado, que mantém a fluidez do sangue no sistema vascular mediante o rígido equilíbrio dos constituintes e dos mecanismos anticoagulantes e procoagulantes, em condições normais (TRIPODI & MANNUCCI, 1996; KAUSHANSKY *et al*, 2010). Quando há lesão vascular, esse equilíbrio é rapidamente deslocado em favor da coagulação para induzir a formação de um tampão hemostático capaz de prevenir o sangramento excessivo (VINE, 2009). O tampão formado, primariamente plaquetário, é então reforçado pela ativação ordenada de uma série de proteínas plasmáticas, os fatores da coagulação, que interagem com as plaquetas e com outros constituintes liberados pelos tecidos, culminando com a formação de um coágulo estável de fibrina no local (RIDDEL, 2007).

2.2.1 Coagulação sanguínea

O mecanismo tradicionalmente aceito pelo qual se dá a coagulação foi descrito pela

clássica “cascata da coagulação”, proposta em 1964 por MacFarlane, Davie e Ratnoff (apud FRANCO, 2001). De acordo com esse modelo, a coagulação ocorre por meio da ativação proteolítica sequencial dos fatores da coagulação por proteases plasmáticas, resultando na geração de trombina que, então, cliva a molécula de fibrinogênio em fibrina. Segundo este modelo clássico, a ativação do sistema de coagulação compreende duas vias distintas, a via intrínseca, envolvendo apenas componentes intravasculares, e a via extrínseca, que inclui elementos usualmente ausentes do espaço intravascular. Ambas as vias convergem para uma via comum a partir da ativação do fator X. A via intrínseca é iniciada pela ativação do fator XII, quando da exposição do sangue a uma superfície com carga elétrica negativa, processo chamado “ativação por contato”, e que depende também da participação da serinoprotease pré-caliceína e de um cofator não enzimático, o cininogênio de alto peso molecular. O fator XIIa (o sufixo “a” indica que essa é a forma ativada) ativa o fator XI, que ativa o fator IX; este, na presença de fator VIIIa (o qual é ativado por traços de trombina) e de íons cálcio, forma o complexo tenase, capaz de ativar o fator X. Na via extrínseca, por sua vez, o fator VII plasmático é ativado na presença do fator tissular (FT), formando o complexo fator VIIa/FT, que também ativa o fator X. O fator Xa, em conjunto com o fator Va (ativado por traços de trombina), Ca^{2+} e fosfolípidos de carga negativa, forma o complexo protrombinase, o qual converte o fator II (protrombina) em IIa, desencadeando a geração de trombina e, subsequentemente, a transformação do fibrinogênio (fator I) em fibrina.

Durante o processo de conversão da protrombina (fator II) em trombina (IIa), o fator Xa quebra uma ligação peptídica, produzindo dois resíduos: um fragmento aminoterminal denominado fragmento 1+2 e um fragmento carboxiterminal, que contém o sítio ativo, denominado pretrombina 2. Este último fragmento sofre uma clivagem pelo fator Xa e se transforma na trombina. A trombina é desligada do fragmento 1+2 da protrombina (F1+2) e, desse modo, não permanece ligada à superfície fosfolipídica, ficando livre no plasma (SCAZZIOTA & ALTMAN, 1996). Os níveis plasmáticos de F1+2 refletem a geração de trombina e podem ser usados como um marcador de hipercoagulabilidade *in vivo*, já que a trombina é uma substância instável e facilmente degradada, que não pode ser medida diretamente no plasma. Conforme citado por Lima *et al* (2005) os testes globais da coagulação

não são adequados para identificar pacientes com doença cardiovascular. Entretanto, níveis plasmáticos elevados de alguns fatores, isoladamente, mostram alta correlação com a ocorrência de eventos trombóticos e a evolução da aterosclerose, tais como o fator VII, o fibrinogênio, o fator VIII, o fator de von Willebrand e os marcadores de hipercoagulabilidade (GIANNITSIS *et al*, 1999; TRIPODI & MANUCCI, 2001).

Embora o conceito de cascata tenha figurado, por décadas, como um modelo de grande valor e extensa utilidade, e represente um importante avanço no entendimento da coagulação, reconheceu-se, nos últimos tempos, sua inadequação para explicar satisfatoriamente vários fenômenos da hemostasia *in vivo* (RIDDEL, 2007). Considerou-se pouco provável, por exemplo, que as vias intrínseca e extrínseca operem como caminhos redundantes e independentes, sendo aceito que todos os fatores da coagulação se inter-relacionam (HOFFMAN, 2003b; KAUSHANSKY *et al*, 2010). Assim, foi proposto um modelo para a hemostasia baseado em superfícies celulares, que enfatiza a importância da interação de receptores celulares específicos com as proteínas da coagulação, e que veio substituir o tradicional modelo de cascata da coagulação (HOFFMAN & MONROE, 2001 *apud* HOFFMAN, 2003a). Todavia, cumpre ressaltar que o modelo clássico da cascata de coagulação ainda é utilizado para explicar o princípio das reações *in vitro* que ocorrem nos testes de triagem da coagulação, tais como tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada.

2.2.1.1 Modelo da coagulação baseado em superfícies celulares

Segundo Hoffman (2003b), o entendimento atual do processo hemostático considera que a coagulação sanguínea ocorre em uma série de etapas distintas que se sobrepõem, compreendendo iniciação, amplificação e propagação, admitindo-se, ainda, a existência de uma fase de finalização. Neste novo modelo, a coagulação requer a participação conjunta de plaquetas e de células que expressam FT, sendo iniciada quando da exposição desse fator aos componentes do sangue no momento de lesão vascular.

O fator tissular é uma glicoproteína transmembrana que atua como receptor e

cofator do fator VII plasmático e tem papel crucial no desencadeamento da coagulação (HOFFMAN & MONROE, 2007). É normalmente expresso em células da parede vascular, tais como fibroblastos e células do músculo liso, sendo exposto na circulação pela lesão do endotélio; o FT não é constitutivamente encontrado nas células endoteliais, mas sua expressão nessas células, como também em monócitos, pode ser induzida por vários agonistas endógenos e exógenos (MALY, 2007). Recentemente, tem-se proposto a existência de micropartículas carreadoras de fator tissular circulantes, tanto em indivíduos saudáveis quanto, principalmente, em condições patológicas (ZWICKER *et al*, 2011).

A partir da exposição do FT aos componentes sanguíneos, há a rápida ativação do fator VII e formação do complexo FT/VIIa, que ativa pequenas quantidades de FIX e FX. A subsequente formação do complexo protrombinase na superfície da célula que expressa o FT, mediante associação de Xa e Va, resulta na produção de pequenas quantidades de trombina, segundo Hoffman (2003b).

A trombina gerada na fase de iniciação, embora insuficiente para concluir o processo de formação do coágulo de fibrina, tem várias funções importantes durante a fase de amplificação do processo, sendo a principal a ativação máxima de plaquetas. Além disso, há a ativação adicional dos cofatores V e VIII e do FXI na superfície plaquetária, o que permite a explosão da coagulação (MONROE, 2009). A trombina também ativa o fator XIII, que atua na estabilização do coágulo de fibrina, e o inibidor da fibrinólise ativado pela trombina, o TAFI, que modula o sistema fibrinolítico (GREEN, 2006).

Na fase de propagação, o fator XIa ligado às plaquetas garante a ativação de quantidade adicional de IXa, que juntamente com a produzida na etapa de iniciação, pode compor o complexo tenase. A partir deste se forma maior quantidade de Xa e, conseqüentemente, do complexo protrombinase (Xa/Va), na superfície plaquetária, resultando na ampla geração de trombina. A trombina formada atua sobre o fibrinogênio para gerar monômeros de fibrina, que se polimerizam e formam um tampão junto às plaquetas, que são também amplamente recrutadas nessa fase, como revisado por Ferreira *et al* (2010).

A finalização, definida por Hoffman (2003b), corresponde à limitação do processo de coagulação à área de lesão, a fim de evitar a oclusão indesejada de áreas adjacentes normais. Para tanto, é fundamental a participação de quatro anticoagulantes naturais, o inibidor da via do fator tissular (TFPI), a proteína C (PC), a proteína S (PS) e a antitrombina (AT).

O modelo da coagulação baseado em superfícies celulares é apresentado esquematicamente na **Figura 1**, abaixo.

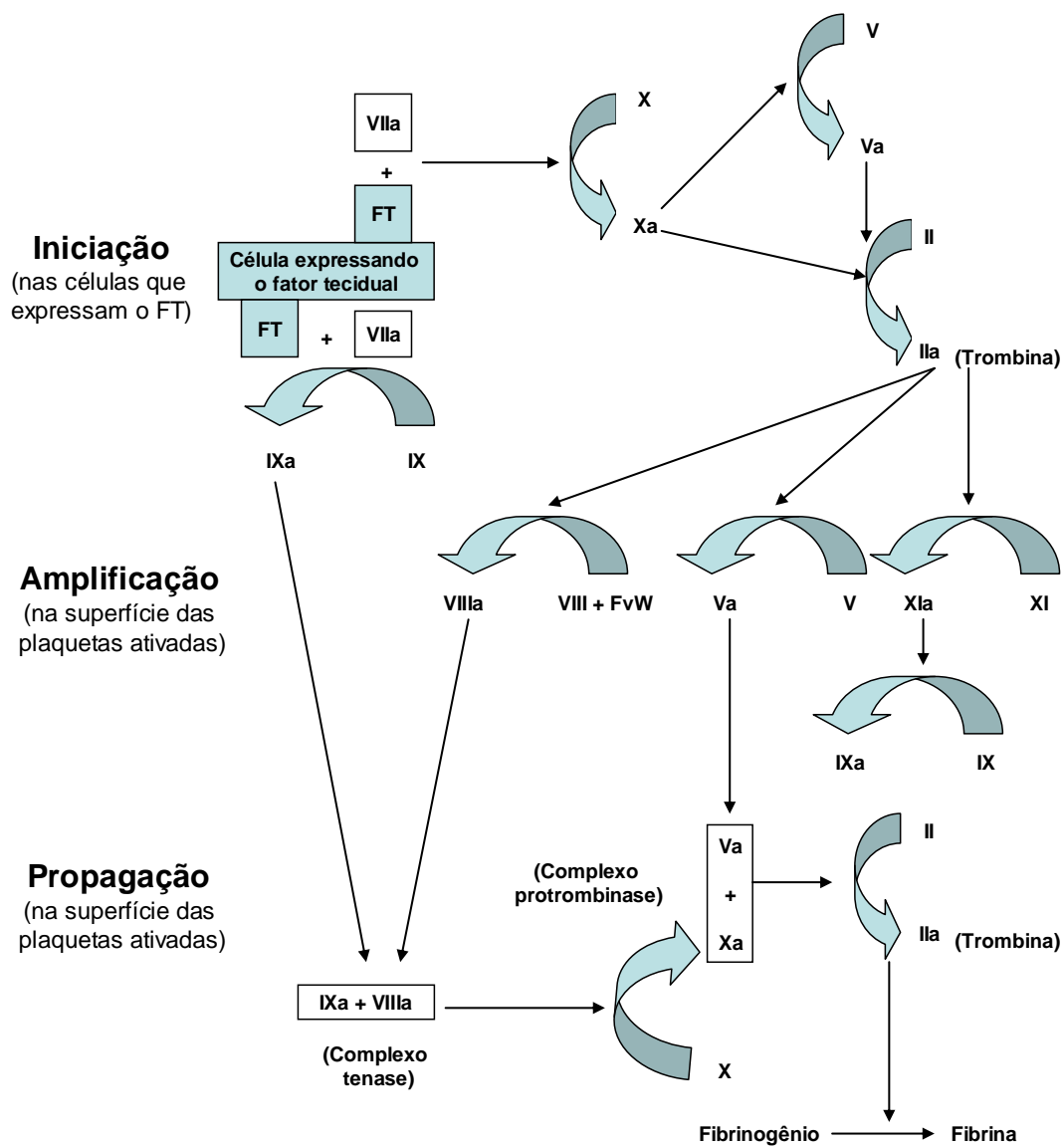


Figura 1 – Representação esquemática do modelo da coagulação baseado em superfícies celulares. Fonte: Adaptado por Ferreira *et al* (2010).

2.3 Sistema fibrinolítico

Uma vez formado o coágulo de fibrina, estabelece-se a ativação fisiológica do sistema fibrinolítico, cujo objetivo é limitar a coagulação e digerir o tampão formado, restabelecendo assim a fluidez sanguínea e a perfusão através do vaso lesado. A fibrinólise é mediada por enzimas do grupo das serinoproteases, primariamente a plasmina, que é produzida a partir de uma proenzima inativa, o plasminogênio, pelo qual o sistema fibrinolítico é também comumente denominado sistema plasminogênio/plasmina. A inibição dessa via se dá por proteínas da superfamília das serpinas e de seus cofatores locais (**Figura 2**) (FRANCO, 2001; RAU *et al*, 2007).

São conhecidos dois ativadores fisiológicos principais do plasminogênio, o ativador tecidual do plasminogênio (t-PA) e o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (u-PA), ambos estruturalmente relacionados e com grande especificidade de ligação ao seu substrato, o plasminogênio, o qual é convertido em plasmina pela hidrólise de uma única ponte peptídica (FRANCO, 2001; MEDCALF, 2007). Esses ativadores são sintetizados e secretados primariamente pelas células endoteliais, sendo o u-PA produzido também por monócitos, macrófagos e células epiteliais renais. t-PA e u-PA são secretados como glicoproteínas de cadeia única, mas, por um mecanismo de *feedback* positivo na cascata fibrinolítica, a plasmina gerada transforma ambos em seus respectivos derivados de cadeia dupla, que exibem maior atividade proteolítica (CESARMAN-MAUS & HAJJAR, 2005; SYROVETS *et al*, 2012).

Outro ativador do plasminogênio descrito na literatura é o fator XII ativado, embora este também contribua, de modo antagônico, para aumentar a densidade e a rigidez do coágulo de fibrina. Considera-se que as proteínas do sistema contato e do sistema fibrinolítico apresentam um elevado grau de homologia, do que decorre a capacidade do FXIIa de converter plasminogênio em plasmina, apesar de a atividade enzimática desse fator ser inferior à dos ativadores t-PA e u-PA. Também está relatado que o FXIIa estimula a fibrinólise de uma forma indireta, pela inativação do PAI-1, o principal inibidor de t-PA *in vivo*, conforme abordado adiante (KONINGS *et al*, 2015).

A fibrina também apresenta um papel importante na auto-regulação desse processo, servindo não apenas como o principal substrato para a plasmina, mas ainda como cofator para a ativação de plasminogênio (RAU *et al*, 2007). Durante a sua degradação, a fibrina é estruturalmente modificada, expondo resíduos de lisina em sua porção carboxi-terminal, os quais representam uma superfície ideal de ligação ao plasminogênio e ao t-PA, pois estes contêm sítios ligantes de lisina (NESHEIM, 2003). Essa interação específica entre os componentes permite o aumento da geração de plasmina. Tem sido reportado um grande aumento na afinidade e na eficiência catalítica de ativação do plasminogênio na presença de fibrina, ao mesmo tempo em que se garante a ativação localizada e restrita do sistema fibrinolítico (COLLEN, 2001; CESARMAN-MAUS & HAJJAR, 2005).

A interação entre fibrina parcialmente degradada, plasminogênio e t-PA pode ser bloqueada por análogos de lisina, como o ácido tranexâmico e, fisiologicamente, pelo TAFI (inibidor da fibrinólise ativado pela trombina), que estabelece uma importante conexão entre a coagulação e a fibrinólise (CESARMAN-MAUS & HAJJAR, 2005). O TAFI ativado (TAFIa) é uma carboxipeptidase plasmática que cliva os resíduos de lisina da superfície da fibrina, reduzindo sua atividade de cofator, já que diminui os sítios disponíveis para ligação do plasminogênio. O TAFI também diminui a atividade do t-PA e reduz a capacidade do fibrinogênio de proteger a plasmina da inativação pela α_2 -antiplasmina (α_2 -AP) (VERSTEEG *et al*, 2013). Segundo Foley e colaboradores (2013), o TAFI pode ser ativado pela trombina isoladamente, mas a taxa de ativação é amplamente acelerada quando esta é associada à trombosmodulina; a plasmina também é capaz de ativar o TAFI e direciona a geração de TAFIa próximo à fibrina, prevenindo a fibrinólise prematura.

A inibição do sistema fibrinolítico ocorre também pela redução da atividade proteolítica de t-PA e u-PA por inibidores específicos, tais como o inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1) e, em menor extensão, do tipo 2 (PAI-2), além do controle da atividade da plasmina via α_2 -AP (MEDCALF, 2007).

O PAI-1 é sintetizado por células endoteliais, megacariócitos, células musculares lisas, fibroblastos, monócitos, macrófagos, hepatócitos, entre outras células; uma vez produzido, é majoritariamente estocado em plaquetas, embora possa também

ser secretado na corrente sanguínea ou depositado no subendotélio vascular (CESARI *et al*, 2010). PAI-1 é um serpina relativamente instável, mas na circulação frequentemente se complexa à vitronectina, uma glicoproteína encontrada no plasma e na matriz pericelular, capaz de estabilizar e converter PAI-1 em sua forma ativa (CESARMAN-MAUS & HAJJAR, 2005; CESARI *et al*, 2010).

A α_2 -antiplasmina, por sua vez, atua como o principal inibidor fisiológico da plasmina, não obstante seja também considerada inibidor de outras enzimas (RAU, 2007). Segundo Collen (2001), a α_2 -antiplasmina interage com os sítios ligantes de lisina tanto do plasminogênio quanto da plasmina. Assim, a α_2 -AP inibe a adsorção do plasminogênio à fibrina, complexa-se à plasmina, além de poder, ainda, interagir com a fibrina via ligação cruzada, tornando-a mais resistente à ação da plasmina local (CARPENTER & MATHEW, 2008). A plasmina, quando livre na circulação sanguínea, é rapidamente inativada pela α_2 -AP; a ligação à fibrina protege consideravelmente a plasmina dessa inativação (COLLEN, 2001).

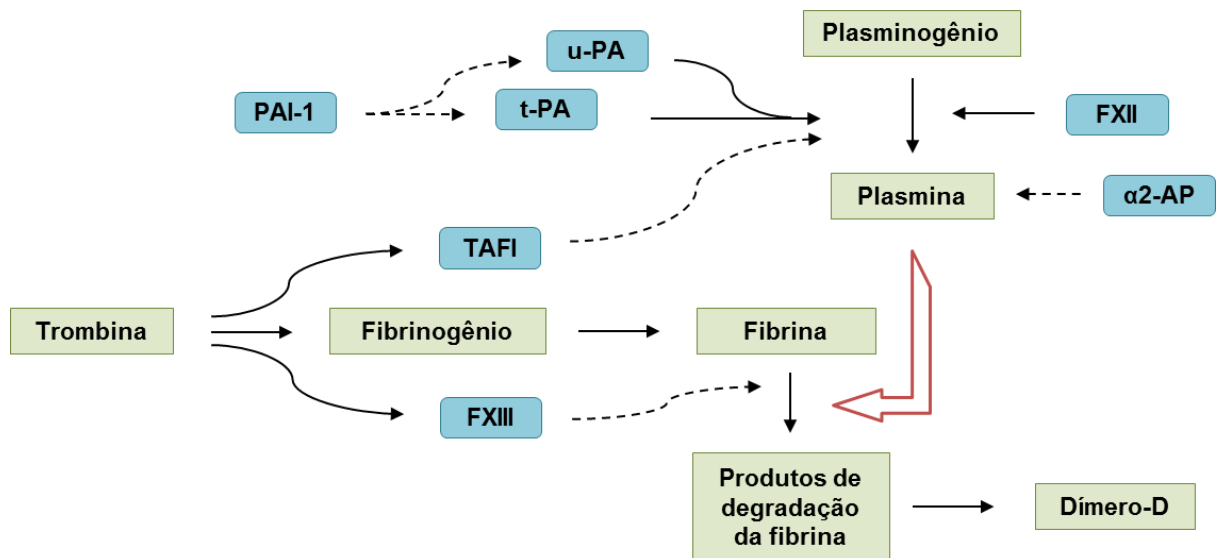


Figura 2 – Representação esquemática simplificada do sistema fibrinolítico. Setas sólidas indicam ativação e setas pontilhadas indicam inibição. α_2 -AP: α_2 -antiplasmina. PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1. TAFI: inibidor da fibrinólise ativado pela trombina. t-PA: ativador tecidual do plasminogênio. u-PA: ativador do plasminogênio do tipo uroquinase. FXII: fator XII. FXIII: fator XIII. Adaptado de Meltzer *et al* (2009).

2.3.1 Fibrinólise e produção de Dímero-D

A clivagem da fibrina gera produtos solúveis de degradação, entre os quais o principal é o dímero-D (D-Di). O D-Di é um indicador global de ativação da coagulação e da fibrinólise, sendo, portanto, um marcador indireto de atividade trombótica (BATES, 2012).

A formação do D-Di depende da ação da plasmina formada na superfície dos polímeros de fibrina sobre sítios específicos desse substrato. Como consequência, há formação de vários produtos de degradação da fibrina (PDF), com diferentes pesos moleculares, incluindo os produtos finais de degradação que contêm a porção D-Di (ADAM *et al*, 2009).

O D-Di é um marcador confiável e sensível de deposição e estabilização de fibrina. Sua determinação pode ser útil no diagnóstico e no manejo de várias condições clínicas relacionadas a eventos trombóticos, como tromboembolismo venoso (TEV), coagulação intravascular disseminada (CID), cardiopatia isquêmica, AVC e na terapia trombolítica. Por outro lado, vários quadros não trombóticos cursam também com aumento de D-Di, tornando esse parâmetro não específico para trombose. Em pacientes hospitalizados ou acometidos por essas condições o teste de dímero-D é limitado, assim como em pacientes com hipofibrinólise, nos quais se espera resultados falso-negativos. Não obstante essa limitação, várias aplicações para a dosagem de D-Di têm sido estabelecidas, sobretudo no diagnóstico e na identificação de indivíduos com alto risco de TEV primária ou recorrente (COSMI & PALARETI, 2005; COSMI *et al*, 2010, COSMI *et al*, 2011; TRIPODI, 2011; AGENO *et al*, 2012b; PALARETI *et al*, 2015).

2.4 Anticoagulantes orais

2.4.1 Varfarina

Os inibidores da vitamina K, como a varfarina, representavam, até recentemente, a única alternativa oral disponível para uso específico na prevenção de AVC em pacientes com fibrilação atrial. De fato, a varfarina tem sido a base da terapêutica de

prevenção de AVC nesses pacientes, com redução do risco de ocorrência dessa complicação em 60% a 80%, em comparação com o tratamento com placebo (VERHEUGT, 2010; RUFF *et al*, 2010).

Os inibidores da vitamina K bloqueiam a ativação dos fatores da coagulação dependentes dessa vitamina, a saber, os fatores II, VII, IX e X. Esses fatores são normalmente submetidos a um processo de γ -carboxilação, essencial para permitir a ligação dos mesmos à superfície aniônica fosfolipídica e, assim, garantir sua atividade coagulante. A vitamina K participa como cofator dessa reação, de modo que sua inibição leva à produção de fatores apenas parcialmente carboxilados, com reduzida ou nenhuma atividade biológica (WEITZ, 2012). A varfarina também afeta a ativação das proteínas C, S e Z, de ação regulatória anticoagulante, podendo haver um efeito pró-coagulante transitório no início da terapia de anticoagulação, até que níveis reduzidos dos fatores da coagulação sejam obtidos (AGENO *et al*, 2012a).

A varfarina é altamente solúvel em água, sofre absorção rápida pelo trato gastrointestinal e tem elevada biodisponibilidade, atingindo seu pico de concentração plasmática em cerca de 90 minutos após administração oral. Apresenta-se como mistura racêmica de meia-vida entre 36 e 42h, que circula ligada a proteínas plasmáticas e acumula-se no fígado, onde exerce sua função no metabolismo da vitamina K (AGENO *et al*, 2012a).

Embora a varfarina tenha eficácia bem estabelecida, uma série de fatores genéticos e ambientais – como dieta e uso concomitante de medicamentos – influenciam a resposta do paciente à droga, implicando em risco elevado de hemorragia e, assim, fazendo necessária a monitoração frequente da coagulação (ROCKET AF, 2010). Para tanto, tem-se utilizado o RNI, obtido utilizando-se o Índice de Sensibilidade Internacional, a partir da comparação da sensibilidade da tromboplastina comercial em relação à tromboplastina padrão da OMS. O tempo de protrombina expresso em RNI permite a comparação de resultados utilizando tromboplastina de diferentes procedências. A experiência clínica mostrou que a faixa alvo de RNI para manutenção da segurança de pacientes com fibrilação atrial em uso de varfarina é de 2 a 3 (WEITZ, 2012). Entretanto, a dificuldade de se atingir a faixa terapêutica se mantém evidente, sendo relatado que, mesmo com monitoração frequente,

pacientes em uso de AVKs permanecem fora desses valores durante mais de um terço do tempo. Vários estudos indicam ainda que, nos Estados Unidos, menos da metade dos pacientes com FA elegíveis para anticoagulação são, de fato, tratados com a varfarina, evidenciando que essas desvantagens têm limitado a utilização dessa droga na prática clínica (RUFF *et al*, 2010; ROCKET AF, 2010). Em um estudo brasileiro, Fornari e cols. (2007) mostraram também que a varfarina foi subutilizada em pacientes com FA com indicação de anticoagulação, sobretudo em idosos, e que, entre os pacientes em uso da droga, houve grande inadequação do RNI. Nesse estudo, a proporção de pacientes elegíveis que utilizavam varfarina foi de 46,5%, evoluindo para 57,8% em um segundo momento de observação, enquanto o intervalo de RNI recomendado foi atingido apenas em 15,6% e 23,2% dos pacientes, respectivamente.

2.4.2 Anticoagulantes orais diretos

Tendo em vista as limitações relacionadas ao uso dos AVKs, tem-se buscado uma alternativa terapêutica efetiva e segura, com início de ação mais rápido, pequeno potencial de interação com outras drogas ou com alimentos, e que tenha efeito anticoagulante que dispense a monitoração de rotina (ERIKSSON *et al*, 2011). Vários novos anticoagulantes de uso oral têm sido recentemente avaliados em estudos clínicos, sendo os principais o dabigatran, um inibidor direto da trombina, e o rivaroxaban, que inibe diretamente o fator X ativado (LOPES, 2012). Ambos estão aprovados na Europa, nos EUA e no Canadá para a prevenção de eventos tromboembólicos arteriais e de AVC em casos de fibrilação atrial não valvar; também há aprovação em mais de 70 países, para uso na prevenção de TEV em pacientes submetidos a artroplastia de quadril ou joelho, entre outras condições (ERIKSSON *et al*, 2011; SIEGAL & CROWTHER, 2013). No Brasil, rivaroxaban e dabigatran estão também aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para as indicações mencionadas. O apixaban, outro inibidor direto do fator Xa, foi mais recentemente aprovado pelas principais agências regulatórias no mundo e está também registrado para comercialização no Brasil desde 2013.

Entre as desvantagens dos anticoagulantes orais diretos, destaca-se a falta de algoritmos de reversão do efeito, em função da ausência de antídotos específicos

disponíveis; isso pode ser especialmente problemático pela inexistência de monitoração laboratorial de rotina para essas drogas, o que impede a avaliação de risco de hemorragia ou retrombose (VERHEUGT, 2010). Em alguns casos, o tratamento demanda a administração do medicamento duas vezes ao dia, o que pode comprometer a adesão dos pacientes. Além disso, a duração curta da ação desses anticoagulantes pode gerar menor proteção se, por exemplo, o paciente deixar de tomar algumas doses consecutivas (HYLEK, 2010).

2.4.2.1 Rivaroxaban

O rivaroxaban foi o primeiro inibidor oral e direto do fator Xa a ser desenvolvido. Foi demonstrado o seu potencial para inibir tanto o FXa livre, quanto as frações associadas à protrombinase e ao coágulo, sem ter efeito direto sobre a agregação plaquetária (MUECK *et al*, 2013). Segundo Perzborn e cols. (2005), tal inibição se dá de modo competitivo, reversível e altamente potente. O rivaroxaban apresenta biodisponibilidade oral elevada e um rápido início de ação, atingindo concentração plasmática máxima entre 3 a 4 horas após a administração. A eliminação ocorre por dois mecanismos; um terço da droga é eliminado em sua forma inalterada por via renal e os dois terços restantes são metabolizados pelo fígado, sendo, subsequentemente, excretados pela urina ou pelas fezes (ROCKET AF, 2010). Em indivíduos jovens saudáveis, a meia-vida do rivaroxaban é de até 9 horas, enquanto nos idosos é cerca de 12 horas. Relata-se que não há interferência de alimentos sobre a absorção gastrointestinal do rivaroxaban, mas este interage com inibidores potentes da CYP3A4 do complexo citocromo P450 e, ainda, com inibidores potentes da proteína transportadora P-glicoproteína (P-gp) (QUINLAN & ERIKSSON, 2013; TAHIR *et al*, 2013).

O rivaroxaban foi investigado quanto ao seu potencial de prevenção de AVC e embolia sistêmica em FA, em um grande estudo clínico de fase III, o ROCKET-AF, que envolveu 14.264 pacientes com FA não valvar e risco aumentado de AVC (PATEL *et al*, 2011). Esse estudo comparou o uso de rivaroxaban 20 mg od ou 15 mg od (em pacientes com *clearance* de creatinina entre 30 e 49 mL/minuto) ao uso de varfarina com dose ajustada para RNI de 2,0 a 3,0. Em relação à segurança, o efeito do rivaroxaban foi similar à varfarina na prevenção de AVC e embolia

sistêmica. Não houve diferença significativa na ocorrência de sangramentos maiores, embora eventos de hemorragias intracranianas ou fatais tenham sido menos frequentes com o uso de rivaroxaban. Por outro lado, mais pacientes em uso do novo anticoagulante apresentaram hemorragia gastrointestinal (PATEL *et al*, 2011; POTPARA *et al*, 2012). Os parâmetros farmacocinéticos observados em pacientes com disfunção renal moderada, que receberam dose de 15 mg od, foram similares aos obtidos dos demais pacientes (MUECK *et al*, 2013).

Até o presente momento, as recomendações para reversão do efeito do rivaroxaban são baseadas em dados limitados e contraditórios, e incluem o uso de Concentrado de Complexo Protrombínico (CCP) não ativado ou parcialmente ativado, bem como de fator VII recombinante, em situações de sangramento grave ou em cirurgias de emergência (HEIDBUCHEL *et al*, 2013; CROWTHER & CROWTHER, 2015; GREINACHER *et al*, 2015). Potenciais antídotos específicos estão sendo desenvolvidos, destacando-se o andexanet alfa, que consiste em uma proteína recombinante modificada de fator Xa, sem atividade enzimática, mas capaz de se ligar a inibidores diretos do fator Xa, atualmente em estudo clínico de fase III (LU *et al*, 2013; GREINACHER *et al*, 2015).

2.4.3 Controle laboratorial da anticoagulação oral

Segundo Tripodi (2013), o manejo da terapia antitrombótica pelo laboratório clínico pode ser feito de duas formas. A primeira, referida como “monitoração”, implica a utilização de testes laboratoriais específicos para avaliar o efeito anticoagulante da droga e para ajustar a dosagem desta, a fim de manter o nível de anticoagulação dentro de um intervalo terapêutico previamente estabelecido; essa forma se aplica aos inibidores da vitamina K, que são monitorados pelo tempo de protrombina, expresso em RNI. A segunda forma é a “mensuração”, por meio da qual se avalia o efeito anticoagulante da droga, não necessariamente com a finalidade de ajuste de dosagem, mas para verificar se a anticoagulação está insuficiente ou em excesso. Essa informação pode ser extremamente útil para a tomada de decisões em circunstâncias especiais. Tal forma de avaliar a terapia antitrombótica se aplica aos anticoagulantes orais diretos.

De fato, os inibidores orais diretos, como dabigatran e rivaroxaban, são dados em doses fixas e não requerem monitoração, uma vez que se pode prever com segurança suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas em pacientes com função renal adequada e sem uso de outras drogas passíveis de interação (BAGLIN *et al*, 2013). Entretanto, a mensuração do efeito anticoagulante dessas drogas é indicada em várias circunstâncias clínicas, como em pacientes apresentando eventos adversos, trombóticos ou hemorrágicos; previamente a procedimentos cirúrgicos; em caso de suspeita de overdose ou de não-adesão ao tratamento; em pacientes com peso corporal ou idade em faixas extremas; em pacientes com insuficiência renal ou falência hepática, nos quais existe o risco de acúmulo de drogas, ou em outros contextos de necessidade de reversão da anticoagulação (TRIPODI, 2013; BAGLIN *et al*, 2013; CUKER *et al*, 2014).

Até o momento, tal controle laboratorial não se encontra bem estabelecido e disponível na rotina clínica. As informações nesse âmbito são ainda escassas e, em geral, derivam de estudos com voluntários saudáveis, sendo, portanto, limitadas (TRIPODI *et al*, 2012).

Os testes laboratoriais disponíveis incluem os testes de coagulação de rotina, que avaliam genericamente a formação do coágulo e poderiam estimar a intensidade da anticoagulação durante o uso dos anticoagulantes orais diretos, e ensaios específicos que quantificam diretamente a inibição de determinado fator da coagulação ou que estimam a concentração plasmática da droga por meio de calibradores e controles específicos (MUECK, 2013; DOUXFILS, 2015).

Alguns autores relatam a sensibilidade de alguns testes já padronizados para avaliação de anticoagulantes convencionais, frente às novas drogas (RYN *et al*, 2010; FREYBURGER *et al*, 2011; GREEN *et al*, 2012; MOLENAAR *et al*, 2012). Os resultados de testes como tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo de trombina (TT), por exemplo, podem ser prolongados após administração dos anticoagulantes orais diretos. Ressalta-se, porém, que a escolha dos testes mais apropriados para avaliação dessas drogas deve se basear em características do teste, como disponibilidade, linearidade da curva dose-resposta, padronização e capacidade de resposta ao aumento da dose

do medicamento, bem como do próprio anticoagulante usado (TRIPODI, 2013).

No que diz respeito ao rivaroxaban, uma revisão sistemática recente identificou que, embora esse anticoagulante prolongue o TP, a sensibilidade do teste varia significativamente de acordo com a tromboplastina utilizada. Um TP prolongado indica qualitativamente a presença do rivaroxaban; entretanto, um TP normal não descarta a possibilidade de que o anticoagulante esteja presente em concentração clinicamente adequada (CUKER *et al*, 2014). Este achado contrasta pontualmente com recomendações prévias elaboradas por sociedades científicas de referência, como ISTH e BCSH (*British Committee for Standards in Haematology*), que consideram que um resultado de TP normal com a maioria dos reagentes descarta uma anticoagulação em intensidade clinicamente significativa (BAGLIN *et al*, 2012; BAGLIN *et al*, 2013). Segundo publicação do ESC, o TP prolongado em pacientes tratados com rivaroxaban pode indicar risco excessivo de sangramento (HEIDBUCHEL *et al*, 2013). De fato, tem sido consenso a utilidade do tempo de protrombina para determinar a intensidade relativa de anticoagulação com o rivaroxaban, desde que consideradas as ressalvas cabíveis. Cada laboratório deve conhecer a sensibilidade do reagente utilizado e padronizar o teste com o uso de calibradores específicos para o anticoagulante; ademais, o RNI não deve ser usado para expressar o resultado do TP, visto não ser confiável nesse contexto (BAGLIN *et al*, 2013; HEIDBUCHEL *et al*, 2013; CUKER *et al*, 2014; DOUXFILS *et al*, 2015).

O TTPa, outro teste de coagulação de rotina, também apresenta grande variabilidade de acordo com o reagente utilizado. Entretanto, outros fatores adicionais, como relação não linear com a concentração da droga e sensibilidade muito reduzida, contribuem para torná-lo inadequado para avaliação do rivaroxaban (CUKER *et al*, 2014).

Entre os testes específicos, o ensaio cromogênico de atividade de anti-fator Xa tem sido sugerido para avaliação laboratorial do rivaroxaban, tendo utilidade para estimar a concentração plasmática da droga, quando calibradores específicos são usados. Este método tem se mostrado adequado para determinação do rivaroxaban em uma ampla faixa de concentração, mas não está rotineiramente disponível na maioria dos laboratórios (DOUXFILS *et al*, 2015).

A **Figura 3** apresenta esquematicamente a aplicabilidade de testes rotineiros de coagulação, TP e TTPa, e do ensaio de atividade de anti-fator Xa, para diferentes faixas de concentração de rivaroxaban.

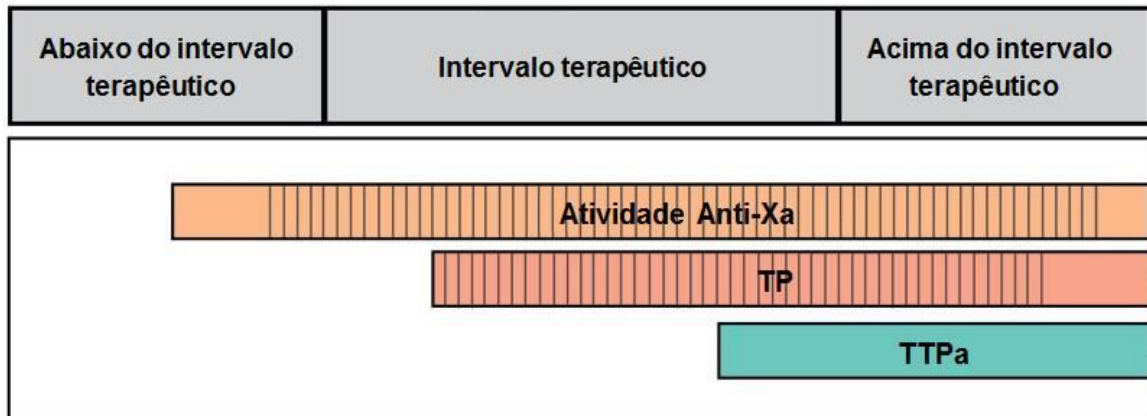


Figura 3 – Aplicabilidade de testes rotineiros de coagulação, TP e TTPa, e do ensaio de atividade de anti-fator Xa, para concentrações de rivaroxaban dentro, abaixo e acima do intervalo terapêutico. As barras horizontais e o padrão tracejado vertical correspondem à sensibilidade e à linearidade, respectivamente, de cada ensaio. Adaptado de CUKER *et al* (2014).

Cabe perceber que o conhecimento dos efeitos dos anticoagulantes orais diretos sobre os testes laboratoriais, em pacientes com e sem hemorragia, ainda é incipiente, e deve ser estabelecido no curso da comercialização dessas drogas. Outros parâmetros hemostáticos comuns devem ser adicionalmente avaliados nesses pacientes, pois podem ser extensa e variavelmente afetados pelo anticoagulante em uso (TRIPODI, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar comparativamente o efeito do rivaroxaban e da varfarina sobre parâmetros hemostáticos em pacientes com fibrilação atrial, com foco no sistema fibrinolítico, confrontando-os a indivíduos controle.

3.2 Específicos

- Determinar os níveis plasmáticos do Fragmento 1+2 da protrombina (F1+2), marcador de geração de trombina.
- Determinar os níveis plasmáticos de fibrinogênio e o tempo de protrombina.
- Determinar os níveis plasmáticos do ativador tecidual do plasminogênio (t-PA).
- Determinar os níveis plasmáticos do inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1) e do inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI).
- Determinar os níveis plasmáticos de Dímero-D (D-Di).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP-UFMG) (CAAE 12603413.0.0000.5149) (ANEXO A) e pelo Comitê de Ética do Hospital Lifecenter.

Os indivíduos selecionados como participantes foram esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa, e os que estavam de acordo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), antes da coleta do material biológico. Para cada participante, também foi preenchida uma Ficha Clínica padronizada, com dados relevantes para a análise dos resultados da pesquisa (APÊNDICE B).

4.2 Casuística

No presente estudo, foram avaliados 58 indivíduos adultos, compreendendo pacientes com fibrilação atrial em uso de varfarina (n=12) ou rivaroxaban (n=28) e indivíduos sem essa arritmia (grupo controle, n=18).

Os indivíduos com fibrilação atrial foram selecionados, sequencialmente, por médicos cardiologistas, a partir da rotina de atendimento em consultórios e ambulatórios, no Hospital Lifecenter e no Hospital Semper, em Belo Horizonte, até a obtenção do número de amostras citado acima. Os indivíduos controle também foram selecionados pela equipe médica ou pelos integrantes da pesquisa.

Os participantes selecionados foram encaminhados para local próprio da instituição para a realização da coleta de sangue; em alguns casos, a coleta foi realizada na residência dos indivíduos. Foram coletadas amostras de sangue venoso no período da manhã, exigindo-se jejum de, no mínimo, 12h.

4.3 Grupo caso

4.3.1 Critérios de inclusão

1. O grupo caso do presente estudo incluiu pacientes com FA não reumática paroxística, persistente ou permanente em risco médio ou alto de eventos tromboembólicos (CHADS₂ ≥ 2).
2. Os indivíduos elegíveis incluíram homens e mulheres, com idade superior a 21 anos e história de FA de qualquer duração, documentada por eletrocardiograma e/ou ecocardiograma bidimensional com *Doppler* dentro de 12 meses anteriores, e para o qual a anticoagulação estava indicada e prevista para o período de duração do presente estudo.

4.3.2 Critérios de exclusão

A existência de qualquer uma das condições listadas abaixo resultou na exclusão do indivíduo:

1. FA transitória secundária a outros transtornos reversíveis, por exemplo, a tireotoxicose, cirurgia cardíaca ou torácica, pneumonia, anemia grave.
2. Situações nas quais a terapia de anticoagulação crônica foi interrompida durante a duração do presente estudo.
3. Qualquer contraindicação para agentes anticoagulantes.
4. Condições associadas a risco elevado de hemorragia, tais como histórias de sangramento intracraniano, intraocular, espinhal, retroperitoneal e intra-articular, sangramento gastrointestinal manifesto ou úlcera ativa dentro do ano anterior; trauma grave recente, cirurgia de grande porte, endocardite infecciosa ativa, hipertensão não controlada (pressão arterial superior a 170/100 mmHg), ou distúrbios hemorrágicos adquiridos ou hereditários.
5. Associação de terapia antiplaquetária ou terapia fibrinolítica ao uso dos anticoagulantes orais.
6. Terapêutica com amiodarona, verapamil, quinidina, cetoconazol, ritonavir, corticoides, anti-inflamatórios, heparina, fondaparinux ou terapia de reposição hormonal.
7. Doenças hepáticas, malignas, autoimunes, tireoidianas e infecciosas.
8. Insuficiência renal grave (*clearance* de creatinina inferior a 30 mL/min).

9. Alcoolismo.
10. Gravidez.
11. Qualquer alteração laboratorial ou clínica relevante, detectada pelo médico responsável, que esteja sob investigação.

4.4 Grupo controle

4.4.1 Critérios de inclusão e exclusão

Foram selecionados para o grupo controle indivíduos sem fibrilação atrial, com características demográficas semelhantes às do grupo caso, sem uso de anticoagulantes orais e com os mesmos critérios clínicos e medicamentosos para exclusão aplicados ao grupo caso.

4.5 Amostras biológicas

Foram coletadas amostras de 10 mL de sangue venoso em citrato de sódio, além de 5 mL de sangue em EDTA e 5 mL em tubo sem anticoagulante, de cada participante, utilizando tubos do Sistema Vacutainer[®] (Becton-Dickinson). As amostras de sangue obtidas foram rapidamente centrifugadas a 3500 rpm, por 15 minutos, em centrífuga não refrigerada, para separação de plasma ou de soro. As amostras de plasma foram transferidas para tubos de ensaio de plástico e, então, submetidas a uma segunda centrifugação, nas mesmas condições, para assegurar a obtenção de plasma pobre em plaquetas ($<10.000/\text{mm}^3$). O soro e o plasma obtidos foram divididos em várias alíquotas e estas estocadas a -80°C até o momento do uso.

4.6 Delineamento experimental

Os seguintes parâmetros hemostáticos foram avaliados:

1. Tempo de protrombina (TP) e RNI
2. Fibrinogênio
3. Fragmento 1+2 da protrombina

4. Ativador tecidual do plasminogênio (t-PA)
5. Dímero-D (D-Di)
6. Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI)
7. Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1)

Também foi realizada a caracterização bioquímica dos participantes, que incluiu a determinação de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), creatinina, triglicérides, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), e proteína C reativa (PCR).

4.7 Métodos

4.7.1 Tempo de protrombina (TP) e RNI

Baseia-se na ativação do mecanismo extrínseco da coagulação, pela adição de tromboplastina tissular e cálcio ao plasma a ser testado (CARVALHO & SILVA, 1988).

A determinação do tempo de protrombina foi feita por método automatizado coagulométrico, por meio do sistema diagnóstico Destiny Max™, utilizando-se como reagente a tromboplastina TriniCLOT PT Excel S, ISI = 1,2 (TCoag, Wicklow, Ireland).

4.7.2 Fibrinogênio

A determinação dos níveis plasmáticos de fibrinogênio, em plasma citratado, foi realizada por método automatizado coagulométrico, utilizando-se o sistema diagnóstico Destiny Max™ e, como reagente, o TriniCLOT Fibrinogen Kit (TCoag, Wicklow, Ireland). O método utiliza excesso de trombina para converter fibrinogênio em fibrina, de modo que a taxa de reação depende da concentração de fibrinogênio na amostra.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de 175 a 400 mg/dL.

4.7.3 Fragmento 1+2 da protrombina (F1+2)

A determinação quantitativa de F1+2 foi realizada no plasma citratado utilizando-se o conjunto diagnóstico *Enzygnost*[®] F1+2 (monoclonal) (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany), cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático ELISA (*Enzyme-Linked Immunossorbent Assay*) de captura, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

A leitura da placa foi realizada a 450 nm por meio do leitor de microplacas VersaMax Microplate Reader – MOLECULAR DEVICES[®], USA.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de 69 a 229 pmol/L.

4.7.4 Ativador tecidual do plasminogênio (t-PA)

A determinação do t-PA foi realizada no plasma em EDTA, utilizando-se o conjunto diagnóstico IMUBIND[®] tPA ELISA (Sekisui Diagnostics, Stamford, USA), por ELISA de captura, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

A leitura da placa foi realizada a 490 nm por meio do leitor de microplacas VersaMax Microplate Reader – MOLECULAR DEVICES[®], USA.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de até 9,0 ng/mL.

4.7.5 Dímero-D (D-Di)

A determinação dos níveis plasmáticos de Dímero-D foi feita em plasma citratado, utilizando-se o Kit IMUNOCLONE[®] D-Dimer ELISA (Sekisui Diagnostics, Stamford, USA), cujo princípio analítico é o ELISA de captura, seguindo as instruções do fabricante.

A leitura das reações foi feita utilizando-se o leitor de microplacas VersaMax Microplate Reader – MOLECULAR DEVICES[®], USA.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de até 400 ng/mL.

4.7.6 Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI)

A determinação do TAFI foi realizada no plasma citratado utilizando-se o conjunto diagnóstico *VisuLize™* TAFI Antigen Kit (Affinity Biologicals™ Inc., Ontario, Canada), por ELISA de captura, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

A leitura da placa foi realizada a 450 nm por meio do leitor de microplacas VersaMax Microplate Reader – MOLECULAR DEVICES®, USA.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de 5,8 a 10,0 µg/mL.

4.7.7 Inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1)

A determinação do PAI-1 plasmático foi realizada no plasma em EDTA, por meio do uso do conjunto diagnóstico IMUBIND® plasma PAI-1 ELISA (Sekisui Diagnostics, Stamford, USA), cujo princípio analítico é o ELISA de captura, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

A leitura da placa foi realizada a 450 nm por meio do leitor de microplacas VersaMax Microplate Reader – MOLECULAR DEVICES®, USA.

O intervalo de referência do teste, fornecido pelo fabricante, é de 2,0 a 47,0 ng/mL.

4.7.8 Caracterização bioquímica

A caracterização bioquímica incluiu a determinação dos parâmetros ALT, AST, GGT, creatinina, triglicérides, colesterol total, HDL e PCR, e foi realizada em amostras de soro, por meio do sistema automatizado VITROS® (Ortho-Clinical Diagnostics, Inc., Rochester, USA), que utiliza a tecnologia MicroSlide™ para química seca.

Os valores de referência fornecidos pelo fabricante estão apresentados a seguir:

- ALT: 13–69 U/L.

- AST: 15–46 U/L.
- GGT: 12–58 U/L.
- Creatinina: 0,66–1,25 mg/dL (sexo masculino), 0,52–1,04 mg/dL (sexo feminino).
- Triglicérides: normal <150 mg/dL, limítrofe 150-199 mg/dL, alto 200-499 mg/dL, muito alto ≥500 mg/dL.
- Colesterol total: desejável <200 mg/dL, limítrofe 200-239 mg/dL, alto ≥240 mg/dL.
- HDL: baixo <40,0 mg/dL, alto ≥60,0 mg/dL.
- PCR: <10 mg/L.

Os resultados de LDL foram calculados a partir dos valores das demais frações, por meio da fórmula de Friedewald, conforme recomendado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) (XAVIER *et al*, 2013). Para esse cálculo, considera-se:

$$\text{LDL} = \text{colesterol total} - (\text{HDL} + \text{Triglicérides}/5).$$

A SBC apresenta os seguintes valores de referência para LDL: ótimo <100 mg/dL, desejável 100-129 mg/dL, limítrofe 130-159 mg/dL, alto 160-189 mg/dL e muito alto ≥190 mg/dL.

4.8 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o *software* MiniTab (versão 17). Os dados foram submetidos a uma análise descritiva e testados quanto à normalidade pelo método de Anderson-Darling. A comparação entre os grupos foi feita pelo teste t-Student ou pela análise de variância (ANOVA), para as variáveis contínuas que apresentaram distribuição normal. As variáveis não-paramétricas foram analisadas por meio do teste de Kruskal-Wallis e do teste de Mann-Whitney, para identificação da diferença de medianas entre grupos. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste exato de Fisher. Foi realizado, ainda, o teste de correlação de Pearson para os parâmetros avaliados, considerando todos os indivíduos estudados de cada grupo. Foram considerados significativos os valores

de $p < 0,05$. Para a elaboração dos gráficos (*scatter plot*), foi utilizado o software GraphPad Prism® (versão 6.07).

5 RESULTADOS

5.1 Características clínicas dos participantes

O presente estudo incluiu 58 participantes, cujas características clínicas principais, referentes à presença de diabetes *mellitus*, hipertensão e ao uso de estatina, estão apresentadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Características clínicas dos participantes do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.

	Controle (n=18)*	Varfarina (n=12)**	Rivaroxaban (n=28)***	P
Idade[†]	66,9 (61,8; 72,1)	72,1 (65,6; 78,6)	77,6 (73,5; 81,6)	0,0042 ^b
Gênero (F/M)	15/3	5/7	15/13	0,045 ^a
Hipertensão	75,0%	90,0%	96,3%	Ns
Uso de estatina	56,3%	100,0%	37,0%	0,027 ^a ; 0,001 ^c
Diabetes	18,8%	30,0%	21,4%	Ns

Valor-p significativo: $p < 0,05$. [†] Apresentado como média e intervalo de confiança (IC) de 95%. Dados de frequência (%) foram analisados pelo teste exato de Fisher. ^a Significativo para Controle vs Varfarina; ^b Significativo para Controle vs Rivaroxaban; ^c Significativo para Varfarina vs Rivaroxaban. ns: Não significativo. F: sexo feminino. M: sexo masculino. Houve variação do tamanho da amostra, em função da ocorrência de dados faltantes: * n entre 16 e 18. ** n entre 9 e 12. *** n entre 26 e 28.

Considerando a totalidade dos indivíduos que integraram o estudo, observou-se maioria do sexo feminino (35 entre 58 participantes, 60%). Entre os grupos de pacientes com FA, houve razoável equilíbrio entre gêneros, embora no grupo Varfarina tenha havido maior proporção de homens e, no grupo Rivaroxaban, maior frequência de mulheres. No grupo Controle, porém, foi observado amplo predomínio do sexo feminino, caracterizando diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo Varfarina ($p=0,045$). A média de idade dos indivíduos Controle foi inferior a dos demais grupos, e também considerada estatisticamente diferente do grupo

Rivaroxaban (p=0,0042).

Em relação às comorbidades apresentadas, diabetes e hipertensão, percebeu-se maior frequência nos grupos de pacientes com fibrilação atrial, embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos avaliados. O uso de estatina foi significativamente mais frequente entre os pacientes em anticoagulação com Varfarina (p=0,027 vs Controle e p=0,001 vs Rivaroxaban).

5.2 Caracterização bioquímica dos participantes

A **Tabela 2** sumariza os dados relativos à dosagem de enzimas hepáticas, avaliação da função renal pelos níveis de creatinina sérica, perfil lipídico e determinação da proteína C reativa.

Tabela 2 – Caracterização bioquímica do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.

	Controle (n=18)	Varfarina (n=11)*	Rivaroxaban (n=28)	p
ALT (U/L)	15 (11; 21)	22 (13; 24)	18 (10; 29)	0,631
AST (U/L)	24 (19; 26)	30 (24; 36)	25 (19; 32)	0,073
GGT (U/L)	24 (22; 36)	38 (20; 82)	36 (23; 60)	0,076
CREA (mg/dL)	0,8 (0,7; 1,0)	1,0 (0,9; 1,1)	1,0 (0,9; 1,4)	0,0273 ^a ; 0,0067 ^b
TRIG (mg/dL) [†]	135 (88; 186)	110 (91; 188)	111 (71; 161)	0,373
Col. Total (mg/dL) [†]	185 (167; 202)	161 (138; 183)	168 (154; 182)	0,172
HDL (mg/dL) [†]	48 (42; 55)	44 (35; 53)	52 (46; 57)	0,339
LDL (mg/dL)	104 (91; 117)	88 (72; 105)	90 (81; 101)	0,189
PCR (mg/L)	10 (7; 13)	11 (9; 19)	8 (7; 12)	0,253

Valor-p significativo: p<0,05. [†] Apresentados como média e IC (95%). Demais variáveis expressas como mediana e intervalo interquartilico. ^a Significativo para Controle vs Varfarina; ^b Significativo para Controle vs Rivaroxaban. ALT: alanina aminotransferase. AST: aspartato aminotransferase. GGT: gama glutamil transferase. CREA: creatinina. TRIG: triglicérides. Col. Total: colesterol total. HDL: lipoproteína de alta densidade. LDL: lipoproteína de baixa densidade. PCR: proteína C reativa.

A comparação das medianas de creatinina sérica demonstrou que este parâmetro foi mais elevado nos pacientes com FA em anticoagulação, embora os valores tenham permanecido dentro da faixa de referência. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos Controle e Varfarina ($p=0,0273$), bem como entre Controle e Rivaroxaban ($p=0,0067$).

Para as demais variáveis bioquímicas investigadas, não foi demonstrada diferença entre os grupos, refletindo homogeneidade destes quanto à caracterização bioquímica.

5.3 Parâmetros hemostáticos

Os resultados referentes aos parâmetros hemostáticos estão apresentados na **Tabela 3**. Estes incluem a avaliação coagulométrica do tempo de protrombina/RNI e os níveis plasmáticos de marcadores da fibrinólise.

Tabela 3 – Parâmetros hemostáticos do grupo Controle e dos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.

	Controle (n=18)*	Varfarina (n=12)**	Rivaroxaban (n=28)***	P
TP (s)	13,3 (12,9; 13,8)	34,8 (23,7; 37,8)	16,3 (14,8; 21,1)	<0,0005 ^{a,b,c}
TP (%A)	82,4 (76,3; 87,3)	20,8 (18,6; 37,7)	57,4 (37,2; 67,8)	<0,0005 ^{a,b,c}
RNI	1,13 (1,09; 1,19)	3,49 (2,02; 3,90)	1,45 (1,28; 2,04)	<0,0005 ^{a,b,c}
F1+2 (pMol/L)	344,4 (271,3; 471,8)	85,3 (46,8; 107,6)	222,0 (184,0; 337,5)	<0,0005 ^{a,c} ; 0,0048 ^b
Fibrinogênio (mg/dL)	307,4 (275,2; 337,9)	333,8 (307,3; 401,5)	326,2 (289,4; 360,8)	0,125
t-PA (ng/mL)	6,78 (3,84; 9,65)	9,42 (6,85; 12,53)	9,34 (5,57; 11,81)	0,145
D-Di (ng/mL)	235,6 (164,4; 343,6)	237,3 (153,0; 394,3)	249,1 (178,9; 378,4)	0,762
TAFI (µg/mL)	3,24 (2,36; 4,00)	4,30 (3,80; 4,61)	4,96 (4,08; 5,64)	0,001 ^a ; <0,0005 ^b
PAI-1 (ng/mL) [†]	75,6 (60,2; 91,0)	84,5 (66,7; 102,3)	82,9 (70,8; 95,0)	0,690

Valor-p significativo: $p < 0,05$. [†] Apresentado como média e IC (95%). Demais variáveis expressas como mediana e intervalo interquartilico. ^a Significativo para Controle vs Varfarina; ^b Significativo para Controle vs Rivaroxaban; ^c Significativo para Varfarina vs Rivaroxaban. TP (s): tempo de protrombina, em segundos. TP (%A): percentual de atividade de protrombina. RNI: Relação Normalizada Internacional. F1+2: fragmento 1+2 da protrombina. t-PA: ativador tecidual do plasminogênio. D-Di: dímero-D. TAFI: inibidor da fibrinólise ativado pela trombina. PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1. Houve variação do tamanho da amostra, em função da ocorrência de dados faltantes: * n entre 16 e 18. ** n entre 10 e 12. *** n entre 25 e 28.

Observou-se grande variação do tempo de protrombina, bem como dos parâmetros derivados, ou seja, a atividade de protrombina e RNI, entre os grupos estudados. A mediana do TP, em segundos, foi significativamente inferior no grupo Controle, em relação aos indivíduos com FA submetidos à anticoagulação oral. Notavelmente, o TP foi mais elevado nos indivíduos em uso de Varfarina, conforme esperado, de modo que há diferença estatisticamente significativa também entre este grupo e o grupo Rivaroxaban. Os resultados obtidos na avaliação do tempo de protrombina estão mostrados na **Figura 4**. De forma análoga, também foi encontrada diferença

significativa nas múltiplas comparações feitas para o percentual de atividade de protrombina e para o RNI (**Figura 5** e **Figura 6**, respectivamente).

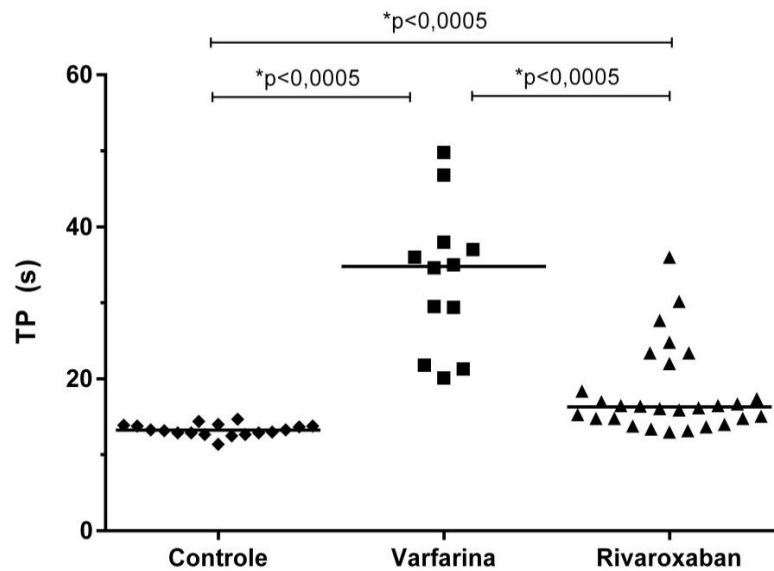


Figura 4 – Tempo de protrombina no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban. As linhas horizontais representam a mediana de cada grupo.

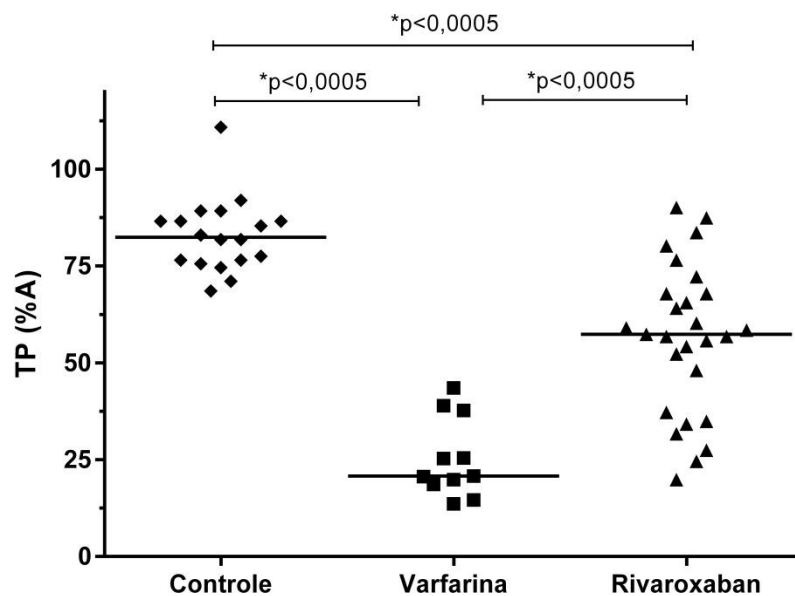


Figura 5 – Atividade de protrombina no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban.

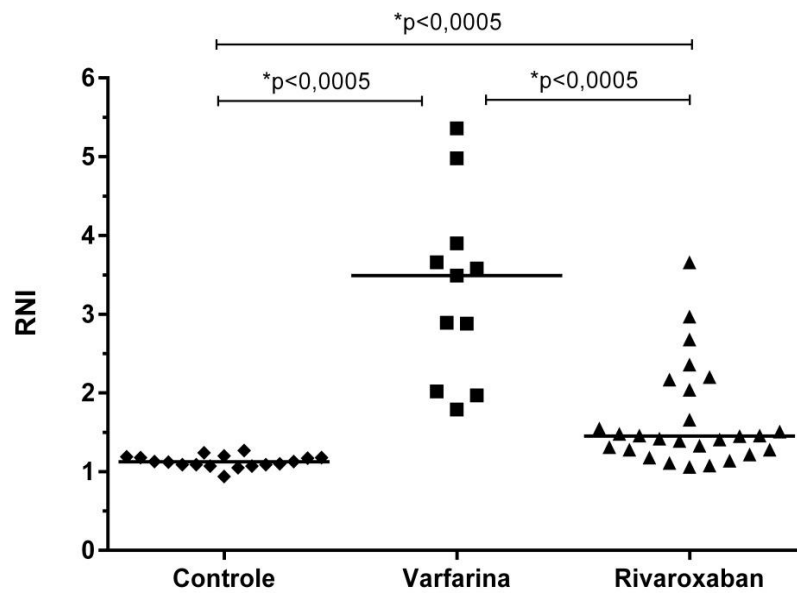


Figura 6 – RNI no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban. As linhas horizontais representam a mediana de cada grupo.

Com referência ao marcador de geração de trombina *in vivo*, F1+2, observou-se a ocorrência de níveis plasmáticos mais elevados nos indivíduos Controle, ao passo que o grupo Varfarina apresentou a menor mediana para essa variável. Houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos estudados, conforme mostrado na **Figura 7**.

Em relação ao TAFI, a mediana foi mais baixa para o grupo Controle e mais elevada para o grupo Rivaroxaban, entre os quais houve diferença significativa. Também foram considerados diferentes os resultados de TAFI para os grupos Controle e Varfarina, quando comparadas suas respectivas medianas. Esses resultados estão apresentados na **Figura 8**.

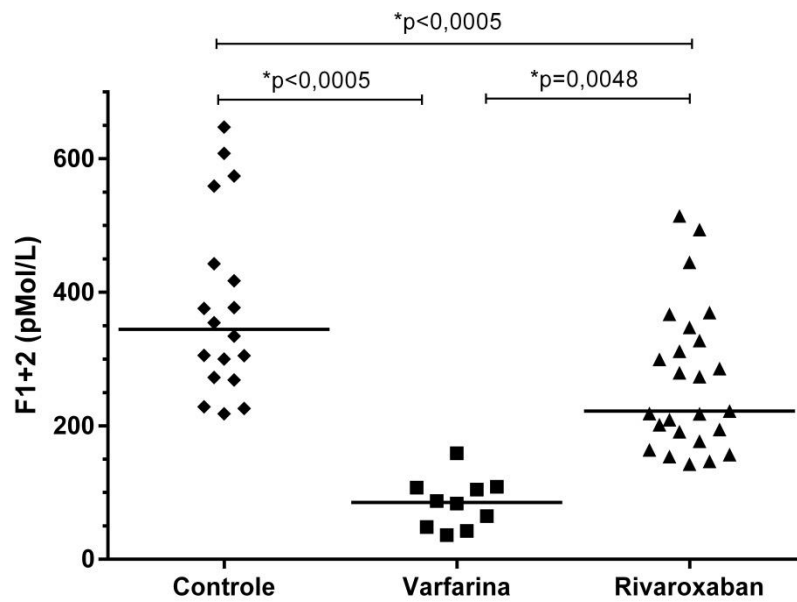


Figura 7 – Níveis plasmáticos de F1+2 no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban. As linhas horizontais representam a mediana de cada grupo.

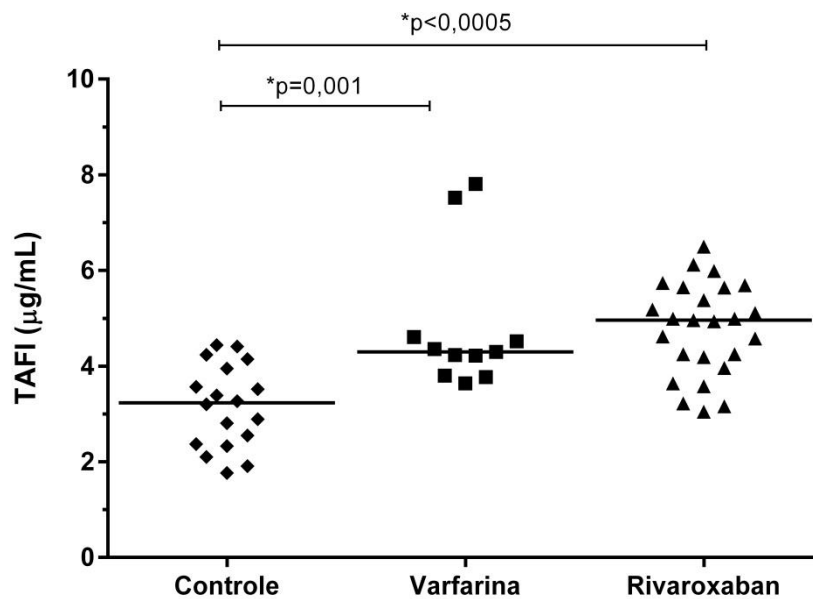


Figura 8 – Níveis plasmáticos de TAFI no grupo Controle e nos grupos em uso de varfarina ou rivaroxaban. As linhas horizontais representam a mediana de cada grupo.

Foram observados níveis ligeiramente elevados de fibrinogênio, PAI-1 e t-PA nos pacientes em anticoagulação oral, em relação ao grupo controle, embora essa diferença não tenha atingido nível de significância estatística.

5.4 Comparação dos parâmetros hemostáticos no grupo Rivaroxaban em função do tempo decorrido entre a última administração do medicamento e o momento de coleta.

A **Tabela 4** apresenta os resultados dos parâmetros hemostáticos, a saber, o tempo de protrombina/RNI e os marcadores de fibrinólise, nos indivíduos do grupo Rivaroxaban, quando considerada a variável referida como “tempo de coleta”. Esta expressa o tempo decorrido entre a última administração do anticoagulante oral pelo paciente e o momento em que foi feita a coleta de sangue.

Tabela 4 – Parâmetros hemostáticos no grupo em uso de rivaroxaban de acordo com o tempo entre a administração do medicamento e a coleta do sangue.

	Tempo ≤12h (n=5)	Tempo >12h (n=19)	p
TP (s)	23,4 (20,05; 30,4)	15,3 (13,8; 16,5)	0,0085
TP (%A) [†]	35,28 (12,96)	62,15 (18,59)	0,005
RNI	2,2 (1,825; 3,008)	1,36 (1,17; 1,472)	0,0101
F1+2 (pMol/L) [†]	300,6 (126,2)	247,6 (94)	0,425
Fibrinogênio (mg/dL) [†]	313 (93,6)	346,7 (81,8)	0,496
t-PA (ng/mL)	7,72 (2,92; 11,83)	8,75 (5,57; 12,44)	0,7657
D-Di (ng/mL)	294 (183; 1135)	228,7 (170,9; 371,4)	0,302
TAFI (µg/mL) [†]	4,294 (1,227)	4,985 (0,855)	0,293
PAI-1 (ng/mL) [†]	86,47 (15,31)	81,31 (34,28)	0,652

Valor-p significativo: $p < 0,05$. [†] Apresentado como média e desvio padrão. Demais variáveis expressas como mediana e intervalo interquartil. TP (s): tempo de protrombina, em segundos. TP (%A): percentual de atividade de protrombina. RNI: Relação Normalizada Internacional. F1+2: fragmento 1+2 da protrombina. t-PA: ativador tecidual do plasminogênio. D-Di: dímero-D. TAFI: inibidor da fibrinólise ativado pela trombina. PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio do tipo 1. Houve variação do tamanho da amostra, em função da ocorrência de dados faltantes: * n=4 para as variáveis t-PA e PAI-1. ** n entre 16 e 19.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos de tempo de coleta “inferior ou igual a 12h” e “superior a 12h” para o parâmetro tempo de protrombina e seus derivados.

O TP, em segundos, foi consideravelmente mais elevado nos pacientes cuja administração do rivaroxaban foi ≤ 12 h, sugerindo que houve sensibilidade do teste para detectar o efeito anticoagulante. Como consequência, a atividade de protrombina, avaliada em termos de média, foi menor nesse grupo. O RNI também se mostrou diferente entre os subgrupos, embora não seja considerado um modo de expressão de resultado confiável no contexto do uso de rivaroxaban. Os resultados mencionados estão demonstrados nos gráficos a seguir (**Figuras 9, 10 e 11**).

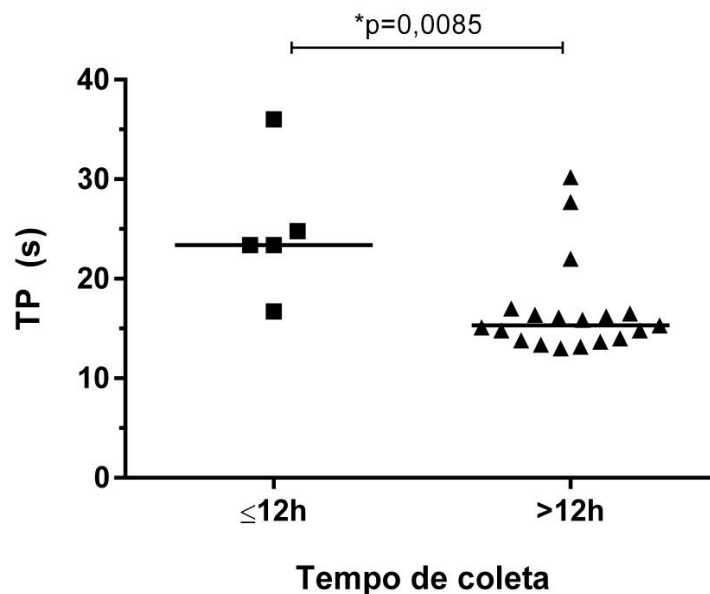


Figura 9 – Tempo de protrombina de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento. As linhas horizontais representam a mediana de cada subgrupo.

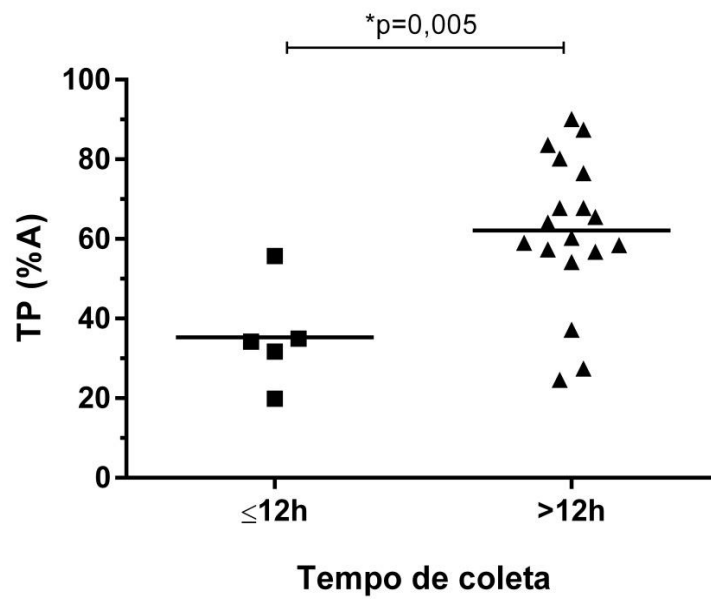


Figura 10 – Atividade de protrombina, em percentual, de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento. As linhas horizontais representam a média de cada subgrupo.

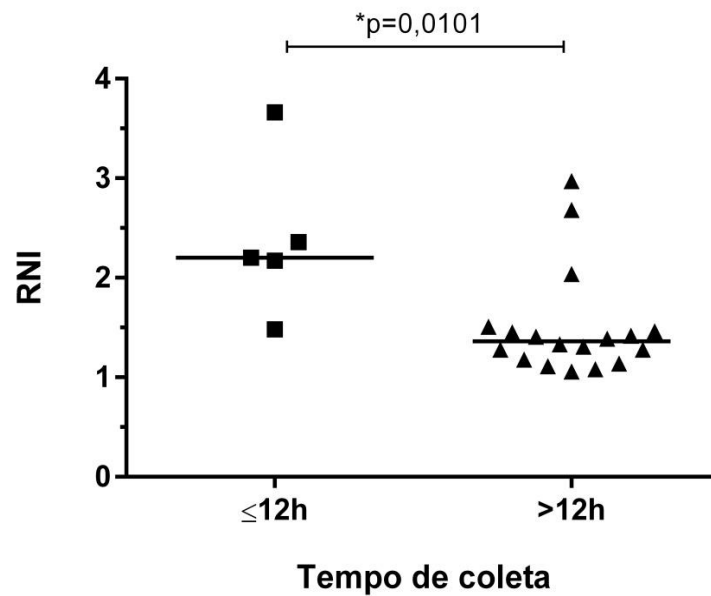


Figura 11 – RNI de pacientes do grupo em uso de rivaroxaban, em função do tempo de coleta, após administração do medicamento. As linhas horizontais representam a mediana de cada subgrupo.

Nenhum dos marcadores de fibrinólise mostrou-se significativamente diferente entre os pacientes em uso de rivaroxaban segundo subgrupo de tempo de coleta após administração do medicamento.

6 DISCUSSÃO

6.1 Características clínicas dos participantes

Conforme mostrado na **Tabela 1**, o grupo em uso de rivaroxaban apresentou idade mais avançada em relação ao Controle, o que reflete a maior frequência de fibrilação atrial em pacientes mais idosos, como reportado por Feinberg *et al* (1995) e Rahman *et al* (2014). Em nosso estudo, a amostra de pacientes com FA foi composta por igual número de homens e mulheres. A literatura relata de modo consistente que há diferença entre os gêneros no que diz respeito à prevalência de FA (KANDEL *et al*, 1998; HEERINGA *et al*, 2006). No estudo de Framingham, por exemplo, após ajuste para idade e outros fatores de risco, a ocorrência de FA foi 1,5 vezes maior no sexo masculino (KANDEL *et al*, 1998). Entretanto, outros fatores que permeiam a composição da amostra podem levar a uma distribuição de gêneros variável entre os pacientes. Kawabata-Yoshihara e cols. (2009) obtiveram resultado semelhante, reportando igual distribuição de homens e mulheres dentro da amostra de FA, embora houvesse prevalência superior de FA em homens na população estudada. Em relação ao grupo controle de nosso estudo, mais mulheres foram incluídas, o que reflete uma característica demográfica da população estudada, nas faixas etárias envolvidas, nas quais há predomínio de indivíduos do sexo feminino, conforme dados municipais de distribuição populacional por gênero (IBGE, 2010).

Quanto às comorbidades hipertensão e diabetes, embora não tenha havido diferença significativa entre os grupos, observou-se que a proporção de indivíduos acometidos por essas doenças tende a ser maior no grupo com fibrilação atrial, seja em uso de varfarina ou em uso de rivaroxaban, em relação ao grupo Controle. Esse fato já era esperado, considerando que tais comorbidades constituem fatores de risco para a FA, sendo frequentes nos pacientes com essa arritmia. Dois grandes estudos epidemiológicos conduzidos recentemente reportaram que hipertensão e diabetes estavam presentes, respectivamente, em mais de 70% e 19% dos pacientes com FA (CHIANG *et al*, 2012; KAKKAR *et al*, 2013).

Com relação ao uso de estatina, curiosamente, o grupo em uso de rivaroxaban apresentou uma frequência menor que o grupo em uso de varfarina (37% *versus*

100%), fato que foge à nossa compreensão. O uso de estatina na totalidade dos pacientes do grupo Varfarina pode ser reflexo do tamanho limitado da amostra. Todavia, o amplo uso de hipolipemiantes já era esperado nos indivíduos com FA em anticoagulação oral, já que a dislipidemia é frequente nessa doença (CHIANG *et al*, 2012). Além disso, a terapia com estatina parece ser benéfica para prevenção secundária de episódio de arritmia em pacientes com FA, embora esse achado seja ainda controverso (WATANABE *et al*, 2011; FANG *et al*, 2012).

6.2 Caracterização bioquímica dos participantes

Conforme mostrado na **Tabela 2**, marcadores de função hepática e renal, perfil lipídico, além da PCR, foram avaliados no presente estudo. As medianas dos marcadores de função hepática estão dentro do intervalo de referência, configurando um perfil hepático normal para todos os grupos avaliados. Embora tenha havido diferença nas medianas de creatinina, marcador de função renal, entre os grupos de pacientes *versus* controle, os valores se encontram dentro do intervalo de referência, configurando uma função renal estável. Quanto ao perfil lipídico e à determinação de PCR, diferenças não foram observadas entre os grupos para quaisquer dos parâmetros avaliados. Embora alguns valores reduzidos para HDL e elevados para LDL tenham sido observados em alguns dos participantes, esses parâmetros, avaliados como média ou mediana, respectivamente, mantiveram-se dentro do intervalo de referência. Cumpre ressaltar que uma busca ao banco de dados mostrou que, apesar do uso de estatina, alguns pacientes ainda apresentavam níveis séricos elevados de LDL. Porém, de modo geral, o uso de estatina parece contribuir para a normalização dos componentes do perfil lipídico, o que é desejável em pacientes idosos, principalmente naqueles já apresentando arritmia. O marcador inflamatório PCR também não se mostrou diferente entre os grupos, configurando um *status* inflamatório semelhante para os participantes desse estudo.

6.3 Parâmetros hemostáticos

Em consonância com o principal foco de nosso estudo, foram avaliados praticamente todos os parâmetros integrantes do sistema fibrinolítico, além do tempo de protrombina e derivados, e F1+2, conforme mostrado na **Tabela 3**.

Para os parâmetros fibrinogênio, t-PA, e PAI-1, nenhuma diferença foi observada entre os grupos em uso de anticoagulante oral e Controle, o que sugere que tanto a varfarina como o rivaroxaban, nas doses utilizadas, não interferem nesses componentes do sistema fibrinolítico, com base nos dados preliminares obtidos no presente estudo. Uma consulta à literatura revelou dados escassos acerca do efeito desses anticoagulantes sobre esses parâmetros avaliados.

Quanto ao TAFI, nosso estudo mostrou nos pacientes, em relação aos controles, níveis significativamente mais elevados deste inibidor da fibrinólise ativado pela trombina, o qual circula como uma proenzima inativa tornando-se ativado durante a coagulação do sangue. A forma ativa (TAFIa) é capaz de inibir a fibrinólise por clivar resíduos de lisina C-terminais de fibrina parcialmente degradada, que estimula a conversão do plasminogênio em plasmina mediada pelo t-PA. Conseqüentemente, a remoção destes resíduos de lisina conduz à redução de plasmina ocorrendo, em decorrência, a proteção do coágulo de fibrina de ser degradado (MARX, 2004). Os níveis de TAFI se mostraram elevados nos pacientes em uso de anticoagulante oral em nosso estudo, sinalizando, a princípio, uma tendência à hipofibrinólise, a qual predispõe à formação crescente de trombos. Porém, o método empregado neste estudo para dosagem de TAFI, o ELISA, avalia os níveis de TAFI antígeno, mas não de atividade. Em nosso estudo, os pacientes eram idosos, fator possivelmente predisponente ao aumento deste inibidor da fibrinólise. Sabe-se que uma maior geração de trombina favorece a ativação do TAFI, porém tanto o uso da varfarina como do rivaroxaban, conforme esperado, diminuíram a geração de trombina no presente estudo, o que foi avaliado pela determinação do F1+2. Portanto, pode-se presumir que, apesar dos níveis do TAFI antígeno se mostrarem elevados, os níveis de TAFIa não acompanharam os níveis do antígeno devido à redução de geração de trombina pelo uso de anticoagulantes orais, contribuindo para restaurar uma fibrinólise normal.

O risco de desenvolver um evento tromboembólico aumenta em situações de hipofibrinólise, a qual é favorecida por redução de t-PA, aumento de inibidores como PAI-1 e TAFI, e também quando ocorre modificação da estrutura do coágulo resultando em uma fibrina menos acessível para enzimas fibrinolíticas (UNDAS *et al*, 2008). Com base no exposto e diante de nossos dados, obtidos em um pequeno

grupo de pacientes com fibrilação atrial e em uso de anticoagulante oral, seja varfarina ou rivaroxaban, não houve evidência de que haja maiores alterações no sistema fibrinolítico dos pacientes estudados. Curiosamente, nos pacientes em uso de rivaroxaban, foram observadas correlações negativas entre os níveis de TAFI e TP, em segundos, ($r=-0,566$; $p=0,003$) e entre os níveis de TAFI e RNI ($r=-0,550$; $p=0,005$), o que não aconteceu nos pacientes em uso de varfarina. Tal fato sugere que a diminuição menos acentuada de geração de trombina devido ao uso de rivaroxaban, em relação à varfarina, apresenta, de alguma forma, papel importante nos níveis de TAFI. Outra correlação negativa, essa já esperada, ocorreu entre os níveis de TAFI e dímero-D ($r=-0,490$; $p=0,013$). Estas mesmas correlações não ocorreram nos pacientes em uso de varfarina, nos quais foi observada uma redução muito mais pronunciada de trombina medida pelo F1+2.

Quanto ao dímero-D, embora não tenha havido diferença entre os grupos, pode-se inferir que esse resultado decorre da ação dos dois anticoagulantes (varfarina ou rivaroxaban) sobre a cascata de coagulação, levando a uma menor geração de trombina e, conseqüentemente, menos fibrina a ser degradada em D-Di. Na ausência do uso de tais anticoagulantes orais, esperar-se-iam níveis mais elevados de dímero-D em pacientes com fibrilação atrial, comparados aos controles, em virtude dos fatores de risco existentes nesses pacientes, predisponentes à hipercoagulabilidade (MAHÉ *et al*, 2002). É amplamente reportado na literatura que a anticoagulação com varfarina de modo a proporcionar RNI entre 2,0 e 3,0 reduz os níveis de dímero-D (LIP *et al*, 1995; LI-SAW-HEE *et al*, 2000) e que a persistência de níveis elevados deste marcador, apesar do uso dessa droga, ou a elevação de tais níveis naqueles que interromperam anticoagulação oral sinaliza para a possível ocorrência de eventos tromboembólicos (PALARETI *et al*, 2005; SARTORI *et al*, 2015). Outro fator que pode ter contribuído para reduzir os níveis de dímero-D nos pacientes com FA, tornando-os comparáveis aos controles, é o maior percentual de pacientes em uso de estatinas, notadamente no grupo varfarina. Níveis reduzidos de dímero-D já foram observados em pacientes em uso de estatina (ADAMS *et al*, 2013), o que reforça a hipótese de que este medicamento reduz o risco de tromboembolismo. Em suma, pode ser que o uso de medicamentos, particularmente estatinas, tenha contribuído para alterar os níveis de alguns parâmetros hemostáticos, todavia, em estudos desta natureza não é possível eliminar todos os

tipos de fatores de confusão.

Com relação à geração de trombina *in vivo*, avaliada pela mensuração dos níveis plasmáticos de F1+2, observou-se valores significativamente reduzidos desse marcador em ambos os grupos de pacientes em uso de anticoagulante, quando comparados ao grupo Controle, sendo que os pacientes em uso de varfarina apresentaram níveis bem mais reduzidos em relação àqueles em uso de rivaroxaban. A redução dos níveis de F1+2 também mostra o efeito anticoagulante de ambos, traduzido pela redução da geração de trombina e está em concordância com a menor formação de dímero-D em relação ao esperado. Esse achado, em teoria, resulta em proteção ao paciente contra eventos tromboembólicos. Quanto à diferença observada entre os níveis de F1+2 para os dois anticoagulantes orais, essa pode ser explicada pela transitoriedade do efeito do rivaroxaban, o que não é constatado nos pacientes em uso de varfarina, cujo efeito é muito mais duradouro. Considerando que a coleta de sangue foi realizada na maioria dos pacientes em uso de rivaroxaban com quase 24 horas após a administração da última dose do medicamento (ou seja, bem próximo à dose subsequente) e que imediatamente antes de uma outra dose os níveis plasmáticos desse medicamento estão muito baixos, era esperado que os níveis de F1+2 não se mostrassem tão reduzidos nesse grupo de pacientes, quanto naquele em uso de varfarina. De fato, em contraste com a varfarina, o conhecimento do intervalo de tempo entre a administração da droga e a coleta de sangue, em pacientes em uso de rivaroxaban, é imprescindível para se interpretar um teste laboratorial que avalie a hemostasia (DOUXFILS *et al*, 2012).

Em consonância com os resultados do marcador de geração de trombina *in vivo*, o exame de triagem que rotineiramente monitora o uso de varfarina, o TP, expresso em RNI, apresentou em nosso estudo resultados indicativos do efeito desse medicamento sobre a cascata de coagulação, conforme esperado (**Tabela 3**). Também o uso de rivaroxaban resultou em prolongamento significativo do tempo de protrombina e, por derivação, aumento do RNI, em comparação ao grupo controle, enquanto a atividade de protrombina foi significativamente reduzida para ambos os grupos sob anticoagulação oral. Este prolongamento do TP observado no presente estudo está em consonância com estudos anteriores reportados na literatura, como por Douxfils e colaboradores (2012), segundo os quais o TP pode ser usado como

um teste de triagem para avaliar risco de sangramento, embora testes mais específicos utilizando calibradores devam ser aplicados para confirmar a concentração plasmática de rivaroxaban.

A esse respeito, a *International Society on Thrombosis and Haemostasis* define basicamente dois tipos de testes para avaliação dos anticoagulantes orais diretos: testes simples semiquantitativos, disponíveis na maioria dos laboratórios, e testes quantitativos, capazes de informar exatamente os níveis da droga. A investigação do efeito do rivaroxaban sobre ambos os tipos de testes tem sido recentemente buscada, a fim de prover evidências que suportem a padronização da avaliação laboratorial dessa droga.

Ressalta-se que o uso de rivaroxaban não demanda monitoração frequente, nem ajuste periódico de dose, entretanto, é inquestionável a necessidade de padronização de testes laboratoriais sensíveis e seguros (qualitativos e quantitativos), que permitam avaliar o grau de anticoagulação ou determinar a dose ótima em situações específicas (DOUXFILS *et al*, 2012). Entre essas situações, pode-se citar, por exemplo, a avaliação de populações especiais de pacientes, como os portadores de insuficiência hepática ou renal, com peso ou idade em faixas extremas, na iminência de cirurgia em pacientes inconscientes, em casos de falha terapêutica ou suspeita de não adesão ao tratamento (FAVALORO & LIPPI, 2012). Nessas circunstâncias, é necessário conhecer o comportamento dos testes disponíveis frente ao *status* hemostático do indivíduo.

A maioria dos estudos conduzidos nesse contexto tem utilizado plasma de indivíduos normais acrescidos de rivaroxaban *in vitro*, contemplando geralmente uma faixa de concentração da droga entre 0 e 1000 µg/L, para investigação de seu efeito sobre os testes de hemostasia. Tem sido demonstrado que diferentes ensaios, bem como o uso de diferentes reagentes dentro de um mesmo ensaio, resultam em efeitos variáveis de acordo com as concentrações plasmáticas da droga. Hillarp e cols. (2011), por exemplo, constataram que concentrações de rivaroxaban próximas às esperadas no pico da droga invariavelmente prolongaram o TTPa, enquanto em baixas concentrações a sensibilidade desse ensaio foi menor. Para o TP, foi observada ampla variação na sensibilidade do teste, ilustrando a variabilidade entre

os reagentes. Outros estudos também mostraram que, em geral, o rivaroxaban prolonga o TP de forma dependente da concentração e apresenta linearidade adequada dentro de ampla faixa de concentração, mas a sensibilidade desse teste não é ideal para concentrações mais baixas e depende amplamente da qualidade do reagente (DOUXFILS *et al*, 2012; SAMAMA *et al*, 2013). Os dados encontrados no presente estudo são condizentes com os achados mencionados na literatura, no que diz respeito ao tempo de protrombina em pacientes em uso de rivaroxaban, cujos resultados foram significativamente prolongados, em relação aos controles, no período até 12 horas após a administração da droga. Ao contrário, este teste não se mostrou prolongado significativamente, em relação aos controles, no grupo de pacientes submetidos à coleta de sangue entre 12 e 24 horas após administração do rivaroxaban (**Tabela 4**). Esse achado reflete o fato de que no pico plasmático da droga (em torno de 2 a 3 horas), o TP é bastante sensível para avaliar o efeito do rivaroxaban, no entanto, próximo à administração da dose subsequente (após 24 horas), esse teste já não se mostra mais significativamente prolongado, em função dos níveis plasmáticos reduzidos do anticoagulante. Cabe destacar que o resultado do TP é amplamente influenciado pela qualidade da tromboplastina empregada, variabilidade esta que não é corrigida ao expressar o resultado em RNI. O desenvolvimento de um índice de sensibilidade válido para o rivaroxaban e a decorrente utilização de um RNI específico para esse anticoagulante já foram propostos e se mostram viáveis para minimizar a variabilidade entre os reagentes (TRIPODI *et al*, 2011).

Estudos incluindo testes quantitativos capazes de mensurar exatamente os níveis plasmáticos da droga são altamente desejáveis para que sejam correlacionados ao *status* hemostático de cada paciente avaliado por meio de testes de rotina como o TP, por exemplo. Tais estudos certamente contribuirão para a introdução de testes de rotina para monitorar o uso de rivaroxaban em caso de necessidade, particularmente, em pacientes especiais portadores de risco de sangramento, norteando a adoção de medidas terapêuticas.

Cabe, finalmente, destacar um dado pontual, relativo à possibilidade de ocorrência de eventos hemorrágicos, no contexto da anticoagulação oral. Tal ocorrência se reflete habitualmente na dosagem de hemoglobina dos pacientes, segundo

mostrado no estudo ROCKET AF (PATEL *et al*, 2011). Nesse estudo, 3,6% dos pacientes em uso de varfarina apresentaram redução dos níveis de hemoglobina igual ou superior a 2 g/dL, enquanto 4,3% daqueles em uso de rivaroxaban apresentaram essa mesma redução, frequência considerada significativamente maior ($p=0,02$). Esses dados refletem pequenos sangramentos ao longo do uso destes medicamentos. Entretanto, sangramentos graves ou fatais, ou ainda hemorragia intracraniana ocorreram em menor proporção nos pacientes em uso de rivaroxaban, quando comparado àqueles em uso de varfarina. A dosagem de hemoglobina foi também avaliada no presente estudo, mas raros pacientes apresentaram esse parâmetro abaixo dos níveis de referência e os três grupos não diferiram entre si (dados não mostrados). Ressalta-se, todavia, que a duração do período de anticoagulação oral não foi avaliada e que não foram feitas dosagens sequenciais de hemoglobina dos participantes, o que representa uma limitação deste estudo preliminar.

6.4 Considerações finais

À luz do conhecimento da potencialidade dos efeitos benéficos sobre o sistema hemostático na prevenção primária ou secundária de eventos tromboembólicos, novos anticoagulantes têm sido aprovados para uso, considerando que a demanda pela terapia antitrombótica deve aumentar em função do envelhecimento populacional. Ressalta-se que três anticoagulantes orais diretos já foram aprovados para uso em grupos específicos de pacientes: rivaroxaban e apixaban, ambos inibidores de fator Xa, e dabigatran, inibidor da trombina. Dessa forma, o advento de novos anticoagulantes na prática clínica, em algumas situações, já é uma realidade, apesar de não existir ainda um antídoto aprovado. Esses anticoagulantes orais diretos apresentam a vantagem de meia-vida curta, menos interação com outras drogas e alimentos e, ainda, não requerem monitoração, conforme já mencionado anteriormente, características que tornam sua utilização mais previsível na maioria dos pacientes. Todavia, em casos especiais, a monitoração pode ser de suma importância. No entanto, ainda falta a padronização de testes que possam ser utilizados com segurança na prática clínica. Conforme revisado por Brinkman e cols. (2015), a sensibilidade dos diferentes testes que avaliam a coagulação é fortemente influenciada pelo tipo e pela concentração dos reagentes utilizados. Segundo os

mesmos autores, para a monitoração da varfarina, o TP ainda permanece como o teste de escolha, enquanto TP e TTPa mostram baixa sensibilidade ao apixaban, sendo significativamente afetados por rivaroxaban e dabigatran. Porém, diante da falta de padronização destes testes, não se pode aplicá-los ainda à prática clínica, por não estar claro até o momento o significado de um TP normal ou prolongado, impedindo qualquer tomada de decisão em condições graves, potencialmente ameaçadoras da vida.

Algumas limitações encontradas no desenvolvimento do presente estudo impediram a apresentação de mais dados. Várias dificuldades foram encontradas na composição da amostra de pacientes e de controle, tais como: número limitado de indivíduos em uso de rivaroxaban, recusa de pacientes em participar do estudo, complexidade de pareamento de idade e sexo entre os grupos, falta de regularidade no recrutamento de participantes ao longo do tempo. Além disso, muitos pacientes foram inelegíveis, de acordo com os rígidos critérios de exclusão definidos nesse estudo, sobretudo, pelo uso frequente de terapia antiplaquetária, amiodarona, verapamil, anti-inflamatórios e reposição de hormônio tireoidiano.

A dificuldade para compor um universo maior de pacientes impossibilitou a análise de subgrupos, tais como uma comparação de parâmetros hemostáticos entre pacientes diabéticos e não diabéticos em uso de anticoagulantes orais. Também teria sido interessante tal comparação entre aqueles que usam ou não estatina, uma vez que esta droga pode influenciar alguns dos parâmetros hemostáticos. Uma análise dos parâmetros hemostáticos em pacientes no pico plasmático do rivaroxaban (entre 2 a 3 horas após administração do medicamento) também seria desejável e esclarecedor acerca de seu efeito sobre o sistema hemostático. Outras importantes limitações foram a impossibilidade de se conseguir, em tempo hábil, calibradores e controles específicos para estimar a concentração plasmática do rivaroxaban; a não realização de comparação entre os resultados dos marcadores hemostáticos e os resultados do CHADS₂ / CHA₂DS₂-VASc (esquemas de estratificação de risco para AVC e tromboembolismo) e, ainda, a ausência de comparação dos parâmetros hemostáticos com os resultados dos exames de imagem à procura de possíveis trombos atriais.

Finalmente, cumpre ressaltar que este estudo continua por meio de uma tese desenvolvida em paralelo, com a qual se pretende avançar nas questões que ora são mencionadas como limitações da presente dissertação.

7 CONCLUSÃO

A comparação entre o efeito do uso de varfarina ou rivaroxaban sobre o sistema hemostático de pacientes com fibrilação atrial, em relação a controles, revelou que o TAFI foi o único parâmetro do sistema fibrinolítico que se mostrou diferente entre os grupos, apresentando níveis mais elevados para os grupos em anticoagulação oral, enquanto foram observados resultados similares para o fibrinogênio, dímero-D, t-PA e PAI-1 entre os três grupos estudados.

Os dados analisados em conjunto permitem concluir que o uso de anticoagulante oral, seja varfarina ou rivaroxaban, resultou em menor geração de trombina *in vivo*, prolongando o TP e aumentando o RNI, sendo que esse efeito foi mais acentuado para a tradicional varfarina.

A análise dos resultados em função do tempo compreendido entre a administração do rivaroxaban e a coleta de sangue revelou que apenas o TP/RNI sofre maior efeito até 12 horas após ingestão da droga, caindo para valores próximos aos normais nas horas subsequentes, antes da dose seguinte.

O dado acima vem reforçar a potencialidade do uso do TP para monitorar o uso de rivaroxaban em situações excepcionais ou de alto risco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAM, S. S. *et al.* D-dimer antigen: current concepts and future prospects. *Blood*, 113(13):2878–2887, 2009.
- ADAMS, N. B. *et al.* Statin therapy and levels of hemostatic factors in a healthy population: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *J Thromb Haemost*, 11(6):1078-84, 2013.
- AGENO, W. *et al.* Oral anticoagulant therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *CHEST*, 141(2) (suppl):e44S-e88S, 2012a.
- AGENO, W. *et al.* The negative predictive value of D-dimer on the risk of recurrent venous thromboembolism in patients with multiple previous events: a prospective cohort study (the PROLONG PLUS study). *Am J Hematol*, 87(7):713-5, 2012b.
- AL-KHATIB, S.M. *et al.* Promise of Factor Xa Inhibition in Atrial Fibrillation. *Curr Cardiol Rep*, 14:70-78, 2012.
- ANDRADE, J. *et al.* The Clinical Profile and Pathophysiology of Atrial Fibrillation: Relationships Among Clinical Features, Epidemiology, and Mechanisms. *Circ Res*, 114:1453-1468, 2014.
- BAGLIN, T. *et al.* British Committee for Standards in Haematology. Effects on routine coagulation screens and assessment of anticoagulant intensity in patients taking oral dabigatran or rivaroxaban: guidance from the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*, 159(4):427-9, 2012.
- BAGLIN, T. *et al.* Measuring oral direct inhibitors of thrombin and factor Xa: a recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost*, 11:756–60, 2013.
- BATES, S. M. D-Dimer Assays in Diagnosis and Management of Thrombotic and Bleeding Disorders. *Semin Thromb Hemost*, 38(7):673-82, 2012.
- BARNES, G. D. *et al.*, for the Subcommittee on the Control of Anticoagulation. Recommendation on the nomenclature for oral anticoagulants: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*, 13:1154–6, 2015.
- BERRA, K. Antithrombotics for stroke prevention in non-valvular atrial fibrillation: an update. *Eur J Cardiovasc Nurs*, Feb 13, 2013.
- BRINKMAN, H. J. Global assays and the management of oral anticoagulation. *Thromb J*, 13:9, 2015.
- CAMM, A.J. *et al.* Guidelines for the management of atrial fibrillation: The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) *European Heart Journal*, 31(19):2369-2429, 2010.

CAMM, A. J. *et al.* 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J*, 33(21):2719-47, 2012.

CARPENTER, S. L.; MATHEW, P. α_2 -Antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance. *Haemophilia*, 14:1250–1254, 2008.

CARVALHO, M.G.; SILVA, M.B.S. *Hematologia; técnicas laboratoriais e interpretação*. Belo Horizonte: [s.n.], 1988. 124 p.

CESARI, M.; PAHOR, M.; INCALZI, R. A. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions. *Cardiovasc Ther.*, 28(5):e72–e91, 2010.

CESARMAN-MAUS, G.; HAJJAR, K. A. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol*, 129:307-21, 2005.

CHIANG, C. E. *et al.* Distribution and risk profile of paroxysmal, persistent, and permanent atrial fibrillation in routine clinical practice: insight from the real-life global survey evaluating patients with atrial fibrillation international registry. *Circ. Arrhythm. Electrophysiol*, 5:632–639, 2012.

CHUGH, S. *et al.* Worldwide Epidemiology of Atrial Fibrillation: A Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation*, 129(8):837–847, 2014.

COLLEN, D. Ham-Wasserman lecture: role of the plasminogen system in fibrin-homeostasis and tissue remodeling. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)*, 1-9, 2001.

CONNOLLY, S.J. *et al.* Dabigatran versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*, 361:1139-1151, 2009.

COPPENS, M. *et al.* The CHA2DS2-VASc score identifies those patients with atrial fibrillation and a CHADS2 score of 1 who are unlikely to benefit from oral anticoagulant therapy. *Eur Heart J*, 34(3):170-6, 2013.

COSMI, B. *et al.*; PROLONG Investigators (on behalf of FCSA, Italian Federation of Anticoagulation Clinics). Residual venous obstruction, alone and in combination with D-dimer, as a risk factor for recurrence after anticoagulation withdrawal following a first idiopathic deep vein thrombosis in the prolong study. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 39(3):356-65, 2010.

COSMI, B. *et al.* D-dimer and residual vein obstruction as risk factors for recurrence during and after anticoagulation withdrawal in patients with a first episode of provoked deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost*, 105(5):837-45, 2011.

COSMI, B; PALARETI, G. D-dimer, oral anticoagulation, and venous thromboembolism recurrence. *Semin Vasc Med*, 5(4):365-70, 2005.

CROWTHER, A; CROWTHER, M. A. Antidotes for Novel Oral Anticoagulants: Current Status and Future Potential. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 35:1736-1745, 2015.

CUKER, A. *et al.* Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the non-vitamin K oral anticoagulants. *J Am Coll Cardiol*, 64(11):1128-39, 2014.

DAVIE, E.W.; RATNOFF, O.D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*, v. 145, p. 1310-1312, 1964 *apud* FRANCO, R.F. Overview of coagulation, anticoagulation and fibrinolysis. *Medicina, Ribeirão Preto*, 34:229-237, 2001.

DOUXFILS, J. *et al.* Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays: laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature. *Thromb Res*, 130(6):956-66, 2012.

DOUXFILS, J. *et al.* Non-VKA Oral Anticoagulants: Accurate Measurement of Plasma Drug Concentrations. *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 345138, 2015.

ERIKSSON, B. I.; QUINLAN, D.J. ; EIKELBOOM, J. W. Novel oral factor Xa and thrombin inhibitors in the management of thromboembolism. *Annu Rev Med*, 62:41-57, 2011.

FALK, R. H. Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*, 344(14):1067-78, 2001.

FANG, W. T. *et al.* The role of statin therapy in the prevention of atrial fibrillation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Br J Clin Pharmacol*, 74(5):744-56, 2012.

FAVALORO, E. J.; LIPPI, G. The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing. *Biochemia Medica*, 22(3):329-41, 2012.

FEINBERG, W. M. *et al.* Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation. Analysis and implications. *Arch Intern Med*, 155:469–73, 1995 *apud* KODANI, E.; ATARASHI, H. Prevalence of atrial fibrillation in Asia and the world. *Journal of Arrhythmia*, 28:330–337, 2012.

FERREIRA, C.N. *et al.* O novo modelo da cascata da coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 32(5):416-421, 2010.

FOLEY, J. H. *et al.* Insights into thrombin activatable fibrinolysis inhibitor function and regulation. *J Thromb Haemost*, 11(Suppl.1):306–15, 2013.

FORNARI, L. S. *et al.* Misuse of antithrombotic therapy in atrial fibrillation patients: frequent, pervasive and persistent. *J Thromb Thrombolysis*, 23:65-71, 2007.

FRANCO, R.F. Overview of coagulation, anticoagulation and fibrinolysis. *Medicina, Ribeirão Preto*, 34:229-237, 2001.

FREYBURGER, G. Coagulation parameters in patients receiving dabigatran etexilate

or rivaroxaban: two observational studies in patients undergoing total hip or total knee replacement. *Thromb Res*, 127(5):457-65, 2011.

FUSTER, V. *et al.* ACC/AHA/ESC guidelines for the management of patients with atrial fibrillation. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients With Atrial Fibrillation) developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *JACC*, 48(4):149–246, 2006.

GAGE, B. F. *et al.* Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *JAMA*, 285(22):2864-70, 2001.

GIANNITSIS, E. *et al.* Prothrombin fragment F1+2, thrombin-antithrombin III complexes, fibrin monomers and fibrinogen in patients with coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol*, 68:269-274, 1999.

GO, A. S. *et al.* Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults. National implications for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA*, 285:2370-2375, 2001.

GRANGER, C. B. *et al.* for the ARISTOTLE Committees and Investigators. Apixaban versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*, 365:981-992, 2011.

GREEN, D. Coagulation cascade. *Hemodialysis International*, 10:s2-s4, 2006.

GREEN, L. *et al.* The effect of total hip/knee replacement surgery and prophylactic dabigatran on thrombin generation and coagulation parameters. *Thromb Res*, 130(5):775-9, 2012.

GREINACHER, A *et al.* Reversal of anticoagulants: an overview of current developments. *Thromb Haemost*, 113: 931–42, 2015.

HART, R. G.; PEARCE, L. A.; AGUILAR, M. I. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med*, 146:857–867, 2007.

HEERINGA, J. *et al.* Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: the Rotterdam study. *Eur Heart J*, 27(8):949-53, 2006.

HEIDBUCHEL, H. European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Europace*, 15:625–651, 2013.

HILLARP, A. *et al.* Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *J Thromb Haemost*, 9(1):133-9, 2011.

HOFFMAN, M. A cell-base model of coagulation and the role of factor VIIa. *Blood Reviews*, 17:s1-s5, 2003a.

HOFFMAN, M. Remodeling the blood coagulation cascade. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 16(1/2):17-20, 2003b.

HOFFMAN, M.; MONROE, D. M. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost*, 85:958–65, 2001 *apud* HOFFMAN, M. A cell-base model of coagulation and the role of factor VIIa. *Blood Reviews*, 17:s1-s5, 2003.

HOFFMAN, M.; MONROE, D. M. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am*, 21(1):1-11, 2007.

HUSTED, S. *et al.* ESC Working Group on Thrombosis Task Force on anticoagulants in heart disease. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOACs): No longer new or novel. *Thromb Haemost*, 111:781–782, 2014.

HYLEK, E. M. Therapeutic Potential of Oral Factor Xa Inhibitors. *NEJM*, 363(26):2559-61, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Sinopse dos Resultados do Censo 2010. Rio de Janeiro, 2011.

JANUARY, C. T. *et al.* 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*, 64(21):2246-2280, 2014.

KAKKAR, A. K. *et al.* Risk profiles and antithrombotic treatment of patients newly diagnosed with atrial fibrillation at risk of stroke: perspectives from the international, observational, prospective GARFIELD registry. *PLoS ONE* 8, e63479, 2013.

KANNEL, W. B. *et al.* Prevalence, Incidence, Prognosis, and Predisposing Conditions for Atrial Fibrillation: Population-Based Estimates. *Am J Cardiol*, 82:2N–9N, 1998.

KAUSHANSKY, K. *et al.* Williams Hematology. 8a edição, McGraw-Hill Education, 2010, 2460 p.

KAWABATA-YOSHIHARA, L. A. *et al.* Prevalência de Achados eletrocardiográficos no paciente idoso: estudo envelhecimento e saúde de São Paulo. *Arq Bras Cardiol*, 93(6):651-656, 2009.

KIM, M. H. *et al.* Estimation of Total Incremental Health Care Costs in Patients With Atrial Fibrillation in the United States. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 4:313-320, 2011.

KONINGS, J. *et al.* The role of activated coagulation factor XII in overall clot stability and fibrinolysis. *Thromb Res*, 136(2):474-80, 2015.

LI-SAW-HEE, F. L.; BLANN, A. D.; LIP, G. Y. Effects of fixed low-dose warfarin, aspirin-warfarin combination therapy, and dose-adjusted warfarin on thrombogenesis in chronic atrial fibrillation. *Stroke*, 31(4):828-33, 2000.

- LIMA, L. M. *et al.* Fragmento 1+2 da protrombina em indivíduos submetidos à angiografia coronariana. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 27(3):188-191, 2005.
- LIN, H. J. *et al.* Stroke severity in atrial fibrillation: the Framingham study. *Stroke*, 27:1760–1764, 1996.
- LIP, G. Y. Stroke in atrial fibrillation: epidemiology and thromboprophylaxis. *J Thromb Haemost*, 9(Suppl.1):344–351, 2011.
- LIP, G. Y. *et al.* Increased markers of thrombogenesis in chronic atrial fibrillation: effects of warfarin treatment. *Br Heart J*, 73(6):527-33, 1995.
- LIP, G. Y.; TSE, H. F.; LANE, D. A. Atrial fibrillation. *The Lancet*, 379(9816):648–661, 2012.
- LIP, G. Y.; BEEVERS, D. G. ABC of atrial fibrillation. History, epidemiology, and importance of atrial fibrillation. *British Medical Journal*, 311(7016):1361–1363, 1995.
- LIP, G. Y. *et al.* Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest*, 137(2):263-72, 2010.
- LIP, G. Y. *et al.* Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: an appeal for consensus on terminology. *Chest*, 145:1177–8, 2014.
- LOPES, R. D. Highlights from the IV International Symposium of Thrombosis and Anticoagulation (ISTA), October 20-21, 2011, Salvador, Bahia, Brazil. *J Thromb Thrombolysis*, 34(1):143-63, 2012.
- LU, G. *et al.* A specific antidote for reversal of anticoagulation by direct and indirect inhibitors of coagulation factor Xa. *Nat Med*, 19:446–451, 2013.
- MACFARLANE, R. G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biological amplifier. *Nature*, 202:498-499, 1964 *apud* FRANCO, R.F. Overview of coagulation, anticoagulation and fibrinolysis. *Medicina, Ribeirão Preto*, 34:229-237, 2001.
- MAHÉ, I. *et al.* D-dimer: a characteristic of the coagulation state of each patient with chronic atrial fibrillation. *Thromb Res*, 107(1-2):1-6, 2002.
- MAJEED, A.; MOSER, K.; CARROLL, K. Trends in the prevalence and management of atrial fibrillation in general practice in England and Wales, 1994–1998: analysis of data from the general practice research database. *Heart*, 86:284–288, 2001.
- MALÝ, M.A. *et al.* The role of tissue factor in thrombosis and hemostasis. *Physiol Res*, 56:685-695, 2007.
- MANTHA, S.; CABRAL, K.; ANSELL, J. New Avenues for Anticoagulation in Atrial Fibrillation. *Clin Pharmacol Ther.*, 93(1):68-77, 2013.

- MARX, P. F. Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *Curr Med Chem*, 11(17):2335-48, 2004.
- MEDCALF, R. L. Fibrinolysis, inflammation, and regulation of the plasminogen activating system. *J Thromb Haemost*, 5(Suppl.1):132-42, 2007.
- MELTZER, M. E. *et al.* The impact of the fibrinolytic system on the risk of venous and arterial thrombosis. *Semin Thromb Hemost*, 35:468-477, 2009.
- MIYASAKA, Y. *et al.* Secular Trends in Incidence of Atrial Fibrillation in Olmsted County, Minnesota, 1980 to 2000, and Implications on the Projections for Future Prevalence. *Circulation*, 114:119-125, 2006.
- MOLENAAR, P. J. *et al.* Measuring Rivaroxaban in a clinical laboratory setting, using common coagulation assays, Xa inhibition and thrombin generation. *Clin Chem Lab Med*, 50(10):1799-807, 2012.
- MONROE, D.M.; HOFFMAN, M. The coagulation cascade in cirrosis. *Clin Liver Dis.*, 13:1-9, 2009.
- MORADY, F.; ZIPES, D.P. Atrial fibrillation: clinical features, mechanisms, and management. In: BONOW, R.O., MANN, D.L., ZIPES, D.P., LIBBY, P. (Eds.). *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2012. p. 825-844.
- MUECK, W; SCHWERS, S.; STAMPFUSS, J. Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thrombosis Journal*, 11:10, 2013.
- NESHEIM, M. Thrombin and fibrinolysis. *Chest*, 124(3):33S-39S, 2003.
- NOZAWA, T. *et al.* Effects of anticoagulation intensity on hemostatic markers in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Circ J*, 68(1):29-34, 2004.
- NOZAWA, T. *et al.* D-dimer level influences thromboembolic events in patients with atrial fibrillation. *International Journal of Cardiology*, 109:59-65, 2006.
- OLESEN, J. B. *et al.* Validation of risk stratification schemes for predicting stroke and thromboembolism in patients with atrial fibrillation: a nationwide cohort study. *BMJ*, 31:d124, 2011 apud LIP, G. Y. H. Stroke in atrial fibrillation: epidemiology and thromboprophylaxis. *J Thromb Haemost*, 9(Suppl.1):344-351, 2011.
- PALARETI, G. *et al.* Poor anticoagulation quality in the first 3 months after unprovoked venous thromboembolism is a risk factor for long-term recurrence. *J Thromb Haemost*, 3(5):955-61, 2005.
- PALARETI, G. *et al.*; DULCIS (D-dimer-ULtrasonography in Combination Italian Study) Investigators. Comparison between different D-Dimer cutoff values to assess the individual risk of recurrent venous thromboembolism: analysis of results obtained in the DULCIS study. *Int J Lab Hematol*, Sept 12, 2015.

PATEL, M.R. *et al.* Rivaroxaban versus Warfarin in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*, 365:883-891, 2011.

PERZBORN, E. *et al.* *In vitro* and *in vivo* studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939 – an oral, direct Factor Xa inhibitor. *J Thromb Haemost*, 3:514–21, 2005.

PISTERS, R. *et al.* A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess one-year risk of major bleeding patients with atrial fibrillation: The Euro Heart Survey. *Chest*, 138(5):1093–1100, 2010.

POTPARA ,T. S. *et al.* Novel Oral Anticoagulants for Stroke Prevention in Atrial Fibrillation: Focus on Apixaban. *Adv Ther*, 29(6):491–507, 2012.

POTPARA ,T. S. *et al.* Reliable identification of "truly low" thromboembolic risk in patients initially diagnosed with "lone" atrial fibrillation: the Belgrade atrial fibrillation study. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 5(2):319-26, 2012b.

QUINLAN, D. J.; ERIKSSON, B. I. Novel oral anticoagulants for thromboprophylaxis after orthopaedic surgery. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 26(2):171-182, 2013.

RAU, J. C. *et al.* Serpins in thrombosis, hemostasis and fibrinolysis. *J Thromb Haemost*, 1:102-15, 2007.

RIDDEL Jr, J.P. *et al.* Theories of blood coagulation. *Journal of Pediatric Oncology Nursing*, 24(3):123-131, 2007.

ROCKET AF study investigators. Rivaroxaban – Once daily, oral, direct factor Xa inhibition Compared with vitamin K antagonism for prevention of stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation: Rationale and Design of the ROCKET AF study. *Am Heart J*, 159(3):340-347, e1, 2010.

ROGER, V.L. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics – 2012 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 125:e2-e220, 2012.

RUFF, C. T. *et al.* Evaluation of the novel factor Xa inhibitor edoxaban compared with warfarin in patients with atrial fibrillation: design and rationale for the Effective aNticoaGulation with factor xA next GEneration in Atrial Fibrillation-Thrombolysis In Myocardial Infarction study 48 (ENGAGE AF-TIMI 48). *Am Heart J*, 160(4):635-41, 2010.

RYN, J. V. *et al.* Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost*, 103(6):1116-27, 2010.

SAMAMA, M. M. *et al.* Laboratory assessment of rivaroxaban: a review. *Thrombosis Journal*, 11(1):11, 2013.

SARTORI, M. *et al.* D-dimer for the diagnosis of upper extremity deep and superficial venous thrombosis. *Thromb Res*, 135(4):673-8, 2015.

SCAZZIOTA, A.; ALTMAN, R. El mecanismo de la hemostasia normal. *Rev Iberoamer Thromb Hemostasia*, 1:9-26, 1996.

SIEGAL, D. M.; CROWTHER, M. A. Acute management of bleeding in patients on novel oral anticoagulants. *Eur Heart J*, 34(7):489-498b, 2013.

SILVERMAN, M. E. From rebellious palpitations to the discovery of auricular fibrillation: contributions of Mackenzie, Lewis and Einthoven. *Am J Cardiol*, 73(5):384-9, 1994.

SINGER, D. E. *et al.* Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*, 133:546S–592S, 2008.

SOMLÓI, M. *et al.* D-dimer determination as a screening tool to exclude atrial thrombi in atrial fibrillation. *Am J Cardiol*, 92:85–87, 2003.

STEWART, S. *et al.* Population prevalence, incidence, and predictors of atrial fibrillation in the Renfrew/Paisley study. *Heart*, 86:516–521, 2001.

SYROVETS, T.; LUNOV, O.; SIMMET, T. Plasmin as a proinflammatory cell activator. *J Leukoc Biol*, 92(3):509-19, 2012.

TAHIR, F. *et al.* The new oral anti-coagulants and the phase 3 clinical trials - a systematic review of the literature. *Thromb J*, 11(1):18, 2013.

TRIPODI, A.; MANNUCCI, P. M. Markers of activated coagulation and their usefulness in the clinical laboratory. *Clin Chem*, 42(5):664-669, 1996.

TRIPODI, A.; MANNUCCI, P. Laboratory investigation of thrombophilia. *Clin Chem*, 47:1597-1606, 2001.

TRIPODI, A. D-dimer testing in laboratory practice. *Clin Chem*, 57(9):1256–1262, 2011.

TRIPODI, A. Laboratory tests and the new oral anticoagulants. *Thrombosis Research*, 130:S95–S97, 2012.

TRIPODI, A. *et al.* The International Normalized Ratio calibrated for rivaroxaban has the potential to normalize prothrombin time results for rivaroxaban-treated patients: results of an in vitro study. *J Thromb Haemost*, 9(1):226-8, 2011.

TRIPODI, A. *et al.* Position paper on laboratory testing for patients taking new oral anticoagulants. Consensus document of FCSA, SIMeL, SIBioC and CISMEL. *Clin Chem Lab Med*, 50(12):2137-40, 2012.

TRIPODI, A. The Laboratory and the New Oral Anticoagulants, *Clin Chem*, 59(2):353-62, 2013.

UNDAS, A. *et al.* Reduced clot permeability and susceptibility to lysis in patients with acute coronary syndrome: effects of inflammation and oxidative stress.

Atherosclerosis, 196(2):551-7, 2008.

VAN STAA, T. P. *et al.* A comparison of risk stratification schemes for stroke in 79 884 atrial fibrillation patients in general practice. *J Thromb Haemost*, 9:39-48, 2011.

VERNE, N. *et al.* High D-dimer levels predict cardiovascular events in patients with chronic atrial fibrillation during oral anticoagulant therapy. *Thromb Haemost*, 90:1163–72, 2003 *apud* WATSON, T.; SHANTSILA, E.; LIP, G. Y. Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited. *Lancet*, 373(9658):155-66, 2009.

VERHEUGT, F. W. A. Novel oral anticoagulants to prevent stroke in atrial fibrillation. *Nat Rev Cardiol*, 7:149–154, 2010.

VERSTEEG, H.H. *et al.* New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol Rev*, 93:327-358, 2013.

VINE, A. K. Recent advances in haemostasis and thrombosis. *Retina*, 28(1):1-7, 2009.

WATANABE, E. *et al.*; Investigators TJ. Statin treatment for patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Int Heart J*, 52(2):103-6, 2011.

WATSON, T.; SHANTSILA, E.; LIP, G. Y. Mechanisms of thrombogenesis in atrial fibrillation: Virchow's triad revisited. *Lancet*, 373(9658):155-66, 2009.

WEITZ, J. Hemostasis, Thrombosis, Fibrinolysis, and Cardiovascular Disease. In: BONOW, R.O., MANN, D.L., ZIPES, D.P., LIBBY, P. (Eds.). *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2012. p. 1844-1867.

WOLF, P. A.; ABBOTT, R. D.; KANNEL, W. B. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke*, 22:983–988, 1991.

XAVIER, H. T. *et al.* V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq. Bras. Cardiol.*, 101(4):s1, 2013.

YOU, J. J. *et al.* American College of Chest Physicians. Antithrombotic Therapy for Atrial Fibrillation: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*, 141(2)(Suppl):e531S-e575S, 2012.

ZIMERMAN, L. I. *et al.* Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes Brasileiras de Fibrilação Atrial. *Arq Bras Cardiol*, 92(6)(supl.1):1-39, 2009.

ZWICKER, J. I. *et al.* Tissue factor-bearing microparticles and thrombus formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31(4):728-33, 2011.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE – 12603413.0.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Cláudia Natália Ferreira
Setor de Patologia Clínica
COLTEC - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 03 de maio de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Varfarina versus novos coagulantes orais: estudo hemostático comparativo em uma população de pacientes com fibrilação atrial**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de Pesquisa “VARFARINA *versus* NOVOS ANTICOAGULANTES ORAIS: ESTUDO HEMOSTÁTICO COMPARATIVO EM UMA POPULAÇÃO DE PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL”

Prezado Sr. (a),

A pesquisa que o senhor (a) está sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) é um estudo científico que tem como objetivo avaliar alguns parâmetros da coagulação em indivíduos com fibrilação atrial e tromboembolismo venoso profundo em uso de varfarina, dabigatran ou rivaroxaban. O benefício que você receberá será através da possibilidade de avaliar o uso do medicamento sobre o ponto de vista da eficácia, segurança e do controle laboratorial que poderá auxiliar o médico responsável em uma melhor conduta terapêutica.

Nesta pesquisa, cada participante deverá responder a um questionário, que será aplicado pela equipe da pesquisa, e deverá doar uma única amostra de sangue, na qual serão realizados vários exames laboratoriais gratuitos, cujos resultados serão encaminhados para o seu médico.

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, com capacidade técnica e experiência que estará atento e tomará todas as providências necessárias. Na coleta de 20 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 no uso dos anticoagulantes orais, na fibrilação atrial e tromboembolismo venoso profundo.

O nome do 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 os participantes. Este projeto visa também publicação dos resultados em revistas especializadas e tese de doutorado.

Não haverá despesas pessoais para o paciente, ficando o ônus (material, recurso humano, despesa com laboratório) para o patrocinador, também não haverá compensação financeira pela sua participação, nem remuneração financeira do pesquisador, 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. Dra. Cláudia Natália Ferreira – Tel: (31) 3409-4983, 8807-6903.
Professora de Análises Clínicas do Setor de Patologia Clínica do Coltec/UFMG.
Assinatura: _____
- Profa Maria das Graças Carvalho – Tel: (31) 3409-6881
Professora Titular do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da
Faculdade de Farmácia da UFMG.
Assinatura: _____
- Dr. Estevão Lanna Figueiredo
Médico Cardiologista colaborador do projeto de pesquisa.
Assinatura: _____
- Rita Carolina Figueiredo Duarte
• Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da
Faculdade de Farmácia da UFMG.
Assinatura: _____
- COEP – UFMG: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de
Minas Gerais. Endereço: Avenida Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa
II, 2º andar - Sala 2005, Campus Pampulha, BH, MG. Tel: (31) 3409-4592.
- CEP – Hospital Lifecenter: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Lifecenter.
Endereço: Avenida do Contorno, 4747, 20º andar, Bairro: Serra, Belo
Horizonte, MG. Tel: (31) 3280-4114.

Agradecemos pela sua valiosa participação!

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que, após convenientemente esclarecido (a) pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar como voluntário (a) do projeto de pesquisa **“Varfarina versus novos anticoagulantes orais: estudo hemostático comparativo em uma população de pacientes com fibrilação atrial/tromboembolismo venoso profundo”**, e autorizo a coleta de 20 mL de sangue e o armazenamento do mesmo e de amostras de DNA para eventuais futuras análises sobre anticoagulação oral, tromboembolismo venoso profundo e fibrilação atrial e que recebi cópia do presente Termo de Consentimento.

Nome completo: _____

Documento de identificação: _____

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

APÊNDICE B – Ficha Clínica

Ficha Clínica



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



FICHA CLÍNICA

Projeto de Pesquisa: “**VARFARINA versus NOVOS ANTICOAGULANTES ORAIS: ESTUDO HEMOSTÁTICO COMPARATIVO EM UMA POPULAÇÃO DE PACIENTES COM FIBRILAÇÃO ATRIAL**”

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: () M () F
- 2.Estado Civil: () solteiro () casado () viúvo () separado () divorciado
- 3.Tabagista: () Não () Sim Quantos cigarros por dia, em média: _____
- 4.Ex-tabagista: () Não () Sim Parou há quanto tempo: _____
- 5.Etilista: () Não () Sim Qual bebida: _____ Quantidade/dia: _____
- 6.Ex-etilista: () Não () Sim Parou há quanto tempo: _____
- 7.Doenças:

() Hipertensão arterial	() Insuficiência cardíaca	() Arritmia	() AVC prévio
() Doença coronariana	() Asma, enfisema	() Doença renal	
() Doença hepática	() Doença hemorrágica	() Tromboses	
() Neoplasias	() Doença da tireóide	() Diabetes mellitus	
- () Outras: _____
- 8.Cirurgias prévias: _____
- 9.Atividade física regular? () Não () Sim : Qual modalidade: _____
Frequência semanal: _____ Duração dos exercícios: _____
- 10.Diagnóstico de dislipidemia prévia: () Não () Sim Qual: _____
Tempo de diagnóstico: _____ Medicamentos em uso e dose: _____
- 11.Uso de anticoagulantes orais? () Não () Sim
Quais: () Varfarina () Dabigatran () Rivaroxaban Dose: _____
12. Outros medicamentos em uso e dose: _____

12. Grau de escolaridade: () Fundamental incompleto () Fundamental completo
() Médio incompleto () Médio completo () Graduação () Pós-Graduação

III – HISTÓRIA FAMILIAR:

1. Seu pai tem/tinha alguma doença? () Não () Sim (Qual? _____)
2. Sua mãe tem/tinha alguma doença? () Não () Sim (Qual? _____)
3. Algum filho seu tem alguma doença? () Não () Sim () Não se aplica
(Qual? _____)
4. Existe alguma doença presente em mais de uma pessoa de sua família (incluindo tios, tias, primos, avós, sobrinhos)? () Não () Sim
Qual e membros afetados? _____)

IV- EXAME FÍSICO:

Peso : _____ altura: _____
 IMC: _____ Circunferência abdominal: _____
 Pressão arterial _____ Medida do quadril: _____
 Frequência cardíaca _____

V-CRITÉRIOS PARA FIBRILAÇÃO ATRIAL NÃO-VALVAR

- () Paroxística () Persistente () Permanente
 Diagnóstico: () ≤ 6 semanas () > 6 semanas
 Recorrente: () Sim () Não
 Escore de risco CHADS2 = _____
 Escore de risco CHA2DS2-VASc = _____
 Escore de risco HAS-BLED = _____
 Fatores de risco predisponentes para fibrilação atrial: () AVC () AIT () Idade > 75 anos
 () Idade entre 65-74 anos () Insuficiência cardíaca () Diabetes mellitus () HAS
 () Sexo feminino () Doença vascular

VI- EXAMES RECENTES / DATA

Hb			
Leucócitos			
Plaquetas			
Glicemia jejum			
PT			
RNI			
PTT _a			
Creatinina			
Clearance de Creatinina			

TGO			
TGP			
GGT			
PCR			
CT			
HDL			
LDL			
VLDL			
TG			
Peptídeo Natriurético			
Ecocardiograma: FEVE Diâmetro atrial esquerdo			
ECG Normal ou alterado? Qual alteração?			

Critérios de exclusão

CLÍNICOS	MEDICAMENTOSOS
<ul style="list-style-type: none"> - Distúrbios hemorrágicos adquiridos ou hereditários; - Doenças hepáticas, malignas, auto-imunes, tireoidianas e infecciosas; - Insuficiência renal grave (<i>Clearance</i> de creatinina inferior a 30 mL/min); - Gravidez; 	<ul style="list-style-type: none"> - Antiplaquetários e fibrinolíticos - Amiodarona - Verapamil - Quinidina - Cetoconazol - Ritonavir - Corticóides - Antinflamatórios - Heparina - Fondaparinux -Terapia de reposição hormonal

médico responsável
(carimbo e assinatura)