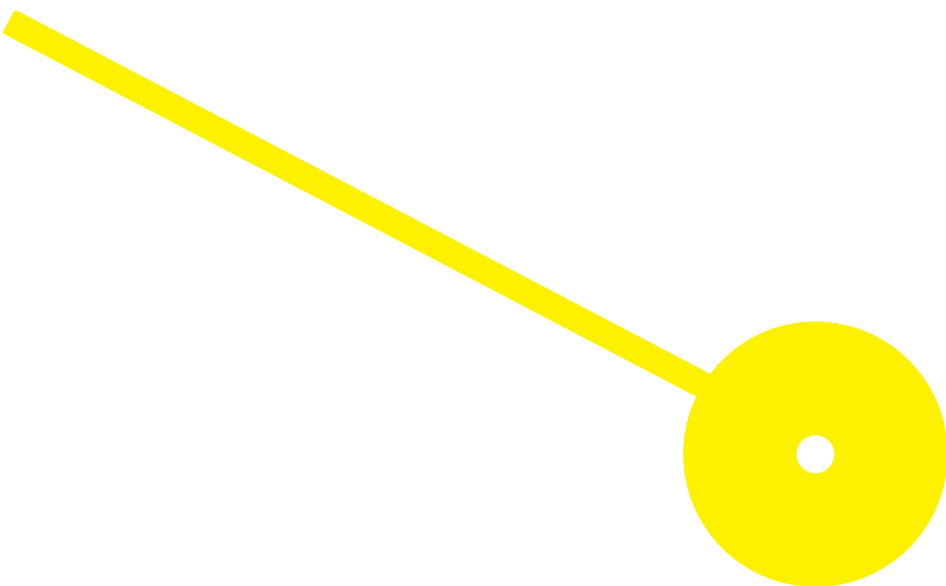




# Papel do FVIII e FvW no Evento Trombótico Venoso

Cláudia Raquel Oliveira Ferreira

09/2023





**ESCOLA  
SUPERIOR  
DE SAÚDE**



## **Papel do FVIII e FvW no Evento Trombótico Venoso**

### **Autor**

Cláudia Raquel Oliveira Ferreira

### **Orientadores**

Professora Especialista Maria do Céu Lamas, Professora Adjunta Escola Superior de Saúde do  
Instituto Politécnico do Porto

Dra. Lídia Costa, Médica Especialista em Imunohemoterapia do Serviço de Imunohemoterapia  
do Centro Hospitalar Universitário de São João

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de **Mestre em Análises Clínicas e de Saúde Pública – Ramo Imunohemoterapia e Transplantação** pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

## **Agradecimentos**

A realização desta dissertação foi um longo caminho, de desafios e alguns percalços, na qual, foi superada com a contribuição de várias pessoas chave.

Quero agradecer à Dra. Lídia Costa, Médica Especialista em Imunohemoterapia, no Serviço de Imunohemoterapia do Centro Hospitalar e Universitário São João, pela sua dedicação, apoio, partilha de conhecimento e disponibilidade total durante todo o percurso.

À Professora Maria do Céu Lamas, Professora Adjunta Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, que orientou este trabalho, pelo acompanhamento, disponibilidade e dedicação.

Aos meus colegas do Serviço de Imunohemoterapia do Centro Hospitalar e Universitário São João, pela sua colaboração na realização deste trabalho.

À minha família pela paciência, compreensão e por sempre me incentivarem nas minhas escolhas.

A todos um sincero Obrigado.

## **Resumo**

O Tromboembolismo venoso (TEV) é uma doença multifatorial que engloba a Trombose Venosa Profunda (TVP), associada ou não à Embolia Pulmonar (TEP). Cerca de 50 - 60% dos casos de TEV são causados por fatores de risco genéticos ou adquiridos, no entanto, 50% dos casos permanecem ainda sem etiologia definida. Acresce ainda que a correlação entre os níveis de fator VIII (FVIII) e de fator de von Willebrand (FvW) e o risco de desenvolvimento de TEV ainda não estarem completamente definidas.

Foi desenvolvido um estudo caso-controlo, abrangendo 12 doentes com um evento trombótico venoso sem trombofilia associada (grupo em estudo) e 15 dadores de sangue saudáveis (grupo controlo). Foram comparados os níveis de FVIII e FvW.

A média dos níveis de FVIII no grupo dos doentes foi de 1,62U/mL e no grupo controlo foi de 1,09U/mL ( $p=0,002$ ), enquanto que a média dos níveis de FvW no grupo dos doentes foi de 1,63U/mL e no grupo controlo foi de 0,93U/mL ( $p<0,001$ ). Ambas as variáveis em estudo revelaram-se estatisticamente significativas, ou seja, podemos admitir que existe uma associação entre o TEV e os níveis de FVIII e FvW.

Este estudo, apesar das suas pequenas dimensões, corrobora os resultados existentes na literatura.

**Palavras-chave:** Trombose Venosa Profunda; Fator VIII; Fator de von Willebrand; Embolismo Pulmonar; Fator de risco pró-trombótico.

## **Abstract**

Venous thromboembolism (VTE) is a multifactorial entity that comprises both deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE). Between 50 – 60% of VTE events present genetic and/or acquired risk factors. Up to 50% of cases remain idiopathic. Furthermore, the association factor VIII (FVIII) and von Willebrand factor (vWF) levels with the risk of development of VTE has not been completely defined.

Case-control study: we studied 12 patients who presented VTE and no known thrombophilia (study group) and compared them with 15 healthy blood donors (control group). FVIII and vWF levels were compared between the two groups.

The average FVIII levels in the patient group were 1.62U/mL and in the control group was of 1.09U/mL ( $p=0.002$ ). Mean vWF levels in the patient group were 1.63U/mL and in the control group were 0.93U/mL ( $p<0.001$ ). Both were statistically significant. We can therefore assume that both FVIII and vWF levels may play a role in VTE.

Despite the small sized population, this study corroborates previous findings in the literature.

**Keywords:** Deep Vein Thrombosis; FVIII; vWF; Pulmonary Embolism; Thrombotic Risk Factor.

## Índice

<b>1.</b>	Introdução .....	1
<b>1.1.</b>	Sistema Hemostático .....	1
<b>1.1.1.</b>	Plaquetas.....	1
<b>1.1.2.</b>	Endotélio .....	2
<b>1.1.3.</b>	Fatores da coagulação .....	4
<b>1.1.4.</b>	Anticoagulantes Naturais.....	6
<b>1.1.5.</b>	Sistema Fibrinolítico.....	7
<b>1.2.</b>	Hemostase.....	8
<b>1.3.</b>	Caracterização/enquadramento do Evento Trombótico venoso.....	11
<b>1.3.1.</b>	TEV – Epidemiologia.....	11
<b>1.3.2.</b>	TEV – Fisiopatologia.....	12
<b>1.3.3.</b>	TEV – Fatores de risco .....	14
<b>1.3.4.</b>	O papel desempenhado pelos FVIII e FvW .....	17
<b>2.</b>	Objetivo .....	20
<b>3.</b>	Métodos .....	20
<b>3.1.</b>	Procedimento.....	20
<b>3.2.</b>	Obtenção de resultados analíticos .....	21
<b>3.3.</b>	Tratamento e análise dos dados .....	22
<b>4.</b>	Resultados .....	23
<b>4.1.</b>	Papel do FVIII e do FvW no evento trombótico venoso.....	27
<b>4.2.</b>	Grupos sanguíneos e valores de FVIII e FvW.....	31
<b>5.</b>	Discussão .....	32
<b>6.</b>	Conclusão .....	37
	Referências Bibliográficas.....	38
	Anexo 1 – Documentos da autorização da Comissão de ética CHUSJ.....	43
	Anexo 2 – Consentimento informado ao participante no estudo.....	48
	Anexo 3 – Texto informativo acerca do estudo .....	49
	Anexo 4 – Princípio dos métodos coagulométrico e imunoturbidimétrico .....	51

## **Abreviaturas**

**ACSS** Administração Central do Sistema de Saúde

**ADP** Adenosina difosfato

**APC** Recetor da Proteína C ativada

**aPTT** Tempo de tromboplastina parcial ativada

**ATP** Adenosina trifosfato

**AVC** Acidente Vascular Cerebral

**BSH** British Society for Haematology

**CHUSJ** Centro Hospitalar Universitário São João

**CVC** Catéter venoso central

**FT** Fator tecidual

**FvW** Fator Von Willebrand

**FvW:Ag** Antígeno do Fator Von Willebrand

**Gp** Glicoproteína

**GpIb/IX/V** Glicoproteínas Ib/IX/V

**GpIIb/IIIa** Glicoproteínas IIb/IIIa

**HMWK** Cininogénio alto peso molecular

**IBM SPSS Statistics** Statistical Package for Social Science

**ISTHN** International Society on Thrombosis and Haemostasis

**PF4** Fator plaquetário 4

**PSGL-1** Ligando da Glicoproteína P-Selectina 1

**PV** Policitemia Vera

**TAFI** Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina

**TEP** Embolia Pulmonar

**TEV** Tromboembolismo Venoso

**TNF- $\alpha$**  Fator de necrose tumoral alfa

**t-PA** Ativador do plasminogénio do tipo tecidual

**TVP** Trombose Venosa Profunda

**u-PA** Ativador do plasminogénio do tipo uroquinase

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Balanço hemostático. Regulação dos mecanismos pró e anticoagulantes. Adaptado de Lippi G, et al (7).....	1
<b>Figura 2:</b> Estrutura da Plaqueta. Adaptado de Zapata JC et al (12).....	2
<b>Figura 3:</b> Esquema dos mensageiros químicos com função anticoagulante nas células endoteliais. Legenda: E-NTPDase1 – Ectonucleósido trifosfato difosfohidrolase-1, PLG – Plasminogénio. Adaptado de Neubauer K et al (13).....	3
<b>Figura 4:</b> Esquema das estruturas procoagulantes presentes nas células endoteliais. Legenda: PAR4 e PAR1 – Recetor ativador da protease 1 e 4, TxA <sub>2</sub> – Tromboxano A <sub>2</sub> , TP – Recetor do tromboxano, $\alpha_{IIb}\beta_3$ – Integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ . Adaptado de Neubauer K et al (13).....	3
<b>Figura 5:</b> Representação esquemática da atividade dos anticoagulantes naturais na regulação da atividade procoagulante. Adaptado de Mann KG et al (14).....	6
<b>Figura 6:</b> Visão geral do sistema Fibrinolítico. Legenda: PAI – Inibidor do ativador do plasminogénio, t-PA – ativador do plasminogénio do tipo tecidular. Adaptado de Amaral Baruzzi AC et al (15) .....	7
<b>Figura 7:</b> Modelo Clássico da Coagulação. Legenda: Pré-K-Fator de Fletcher; Ca <sup>++</sup> -ião cálcio; PL-Fosfolipídios plaquetários. Adaptado de Gonçalves de Souza A et al (17).....	9
<b>Figura 8:</b> Modelo da coagulação baseado em superfícies celulares. Adaptado de Smith SA. (5) .....	10
<b>Figura 9:</b> Interações no desenvolvimento da trombose venosa. Adaptado de Koupenova M et al (22).....	11
<b>Figura 10:</b> Tríade de Virchow. Adaptado de Alves ECP et al (21) .....	13
<b>Figura 11:</b> Fisiopatologia do TEV. Adaptado de Khan F et al (19) .....	14
<b>Figura 12:</b> Incidência anual de TEV distribuída por sexo e idade. Adaptado de Heit JA et al (2) .....	15
<b>Figura 13:</b> As três funções extracelulares do FvW. Adaptado de Michels A et al (35).....	18
<b>Figura 14:</b> Ligação dos determinantes antigénico A e B aos monómeros de FvW. Adaptado de Ward SE, et al (36).....	19
<b>Figura 15:</b> Avaliação dos fatores de inclusão exclusão da amostra obtida entre 1 de novembro de 2022 e 30 de junho de 2023 .....	23
<b>Figura 16:</b> Fluxograma de seleção dos doentes.....	24
<b>Figura 17:</b> Distribuição dos doentes e controlos em função da faixa etária.....	25

<b>Figura 18:</b> Distribuição dos doentes e controlos em função do sexo.....	25
<b>Figura 19:</b> Distribuição dos doentes e controlos em função do grupo sanguíneo.....	26
<b>Figura 20:</b> Valores médios de hemoglobina (g/dL) no grupo dos doentes e controlos.....	26
<b>Figura 21:</b> Frequência do tipo de evento trombótico venoso nos doentes.....	27
<b>Figura 22:</b> Distribuição dos eventos trombóticos venosos por mês de ocorrência.....	27
<b>Figura 23:</b> Distribuição dos níveis FVIII (U/mL) por grupo.....	28
<b>Figura 24:</b> Distribuição dos níveis de FvW (U/mL) por grupo.....	28
<b>Figura 25:</b> Distribuição da concentração média do FVIII e do FvW (U/mL), em função da idade no grupo dos doentes.....	30
<b>Figura 26:</b> Distribuição da concentração média do FVIII e do FvW (U/mL), em função da idade no grupo do controlo.....	31
<b>Figura 27:</b> Valores médios do FvW e FVIII (U/mL) em função do grupo sanguíneo, nos dois grupos. ....	31
<b>Figura 28:</b> Método coagulométrico para o doseamento do FVIII. Adaptado de Coagulation assays (59).....	51

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Moléculas presentes no endotélio vascular com funções anticoagulante ou procoagulante. Adaptado de Neubauer K et al (13) .....	4
<b>Tabela 2:</b> Fatores da coagulação. Adaptado de Palta S et al (9).....	5
<b>Tabela 3:</b> Fatores de risco do TEV, Adaptado de F. R. Rosendaal (29).....	16
<b>Tabela 4:</b> Frequência dos fatores de risco genéticos na população, Adaptado de Middeldorp S (23).....	17
<b>Tabela 5:</b> Variáveis em estudo .....	21
<b>Tabela 6:</b> Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) distribuído por doentes e controlos.	28
<b>Tabela 7:</b> Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) segundo a estação do ano.....	29
<b>Tabela 8:</b> Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) por tipo de evento.....	29
<b>Tabela 9:</b> Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) em função do sexo, nos dois grupos. .....	30

## 1. Introdução

O Tromboembolismo Venoso (TEV) é uma entidade vasta que engloba a Trombose Venosa Profunda (TVP) associada ou não à Embolia Pulmonar (TEP) (1). Estima-se que a incidência anual de casos de TEV na população europeia se situe entre 104 e 183 casos por 100 000 habitantes/ano, sendo considerada a terceira doença cardiovascular mais frequente (2,3).

A fisiopatologia do TEV envolve uma série de interações complexas entre a superfície endotelial, as plaquetas e ativação de fatores de coagulação, resultantes do desequilíbrio do funcionamento normal do Sistema Hemostático e consequente dano endotelial e tissular (4).

### 1.1. Sistema Hemostático

Este sistema contribui para as características reológicas do sangue e sua homeostase através da regulação simultânea dos mecanismos pró- e anticoagulantes, de modo que não se verifiquem nem tendência à hemorragia, nem formação excessiva e descontrolada de trombos (Figura 1) (5). Deste sistema fazem parte as plaquetas, o endotélio, os fatores da coagulação, os anticoagulantes naturais e o sistema fibrinolítico (6).

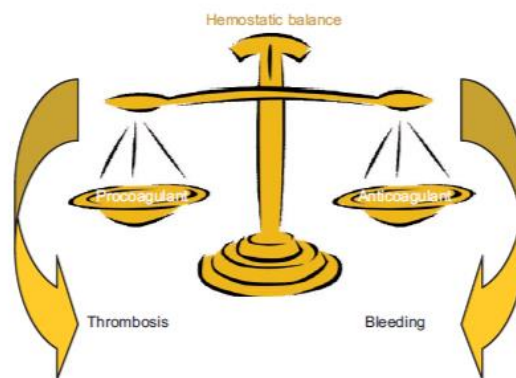


Figura 1: Balanço hemostático. Regulação dos mecanismos pró e anticoagulantes. Adaptado de Lippi G, et al (7).

#### 1.1.1. Plaquetas

As plaquetas são pequenos fragmentos celulares anucleados, discóides, que derivam dos megacariócitos, através da megacariopoiese, com uma semi-vida de 8 a 10 dias. A concentração plaquetária habitual no adulto saudável varia entre  $150 - 450 \times 10^9 / L$  (8-10).

O seu citoesqueleto contém microtúbulos que são responsáveis pela sua adaptabilidade e locomoção sempre que sejam recrutadas, tendo a capacidade de mudança

de forma consoante o estado de repouso (discóide) ou ativada (esféricas com emissão de pseudópodes) (11).

São compostas por uma membrana externa ou glicocálix onde se localizam várias glicoproteínas (Gp), incluindo os complexos GpIIb/IIIa e GpIb/IX/V, que têm um papel relevante sempre que há lesão do endotélio e disrupção do seu normal funcionamento. Estes complexos de glicoproteínas estão envolvidos na ativação, adesão e agregação plaquetária, e ainda na retração do coágulo a par de muitas outras Gp (11).

A par das Gp, as plaquetas contêm diferentes tipos de grânulos (grânulos alfa e grânulos densos), que contêm diversas quimiocinas e fatores coagulação e um sistema canicular aberto, relevantes para as suas mudanças de forma e libertação do conteúdo granular (11).

Os grânulos alfa são maiores, mais abundantes e heterogêneos. Contêm albumina, fibrinogénio, fator de von Willebrand (FvW), FV, FVIII, fibronectina, fator plaquetário-4 (PF4) e  $\beta$ -tromboglobulina (9,11). Os grânulos densos são mais pequenos e em menor número, contendo adenosina trifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), histamina, epinefrina, serotonina, cálcio e magnésio (9,11). Na Figura 2 podemos observar a estrutura da plaqueta.

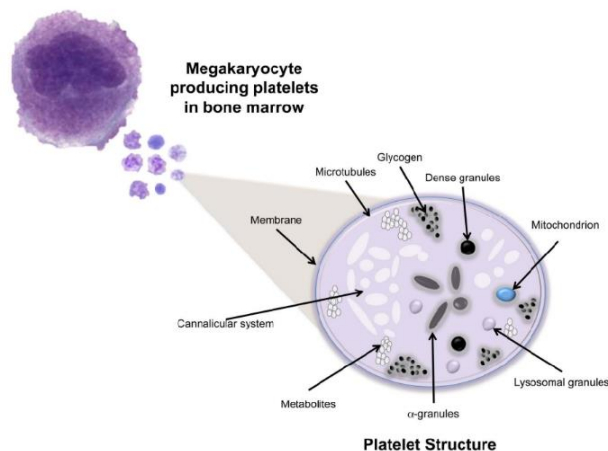


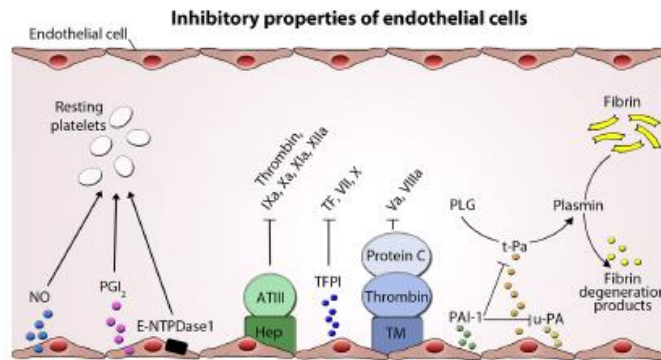
Figura 2: Estrutura da Plaqueta. Adaptado de Zapata JC et al (12).

### 1.1.2. Endotélio

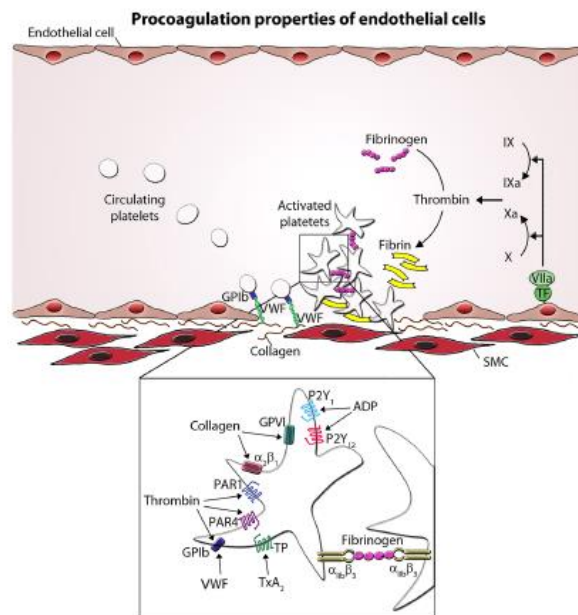
O endotélio é formado por células endoteliais que revestem a parede interna dos vasos sanguíneos, apresentando funções de: transporte intracelular, regulação do tónus vasomotor e manutenção das propriedades reológicas do sangue (13).

As células endoteliais, em condições fisiológicas, têm a capacidade de manter o fluxo laminar sanguíneo, prevenindo a formação de trombos de forma não controlada e a perda de

sangue extravascular, através da síntese de diversas moléculas. Essas moléculas podem ter ação anticoagulante ou procoagulante, como podemos observar nas Figuras 3 e 4 (13).



**Figura 3:** Esquema dos mensageiros químicos com função anticoagulante nas células endoteliais. Legenda: E-NTPDase1 – Ectonucleósido trifosfato difosfohidrolase-1, PLG – Plasminogénio. Adaptado de Neubauer K et al (13).



**Figura 4:** Esquema das estruturas procoagulantes presentes nas células endoteliais. Legenda: PAR4 e PAR1 – Recetor ativador da protease 1 e 4, TxA<sub>2</sub> – Tromboxano A<sub>2</sub>, TP – Recetor do tromboxano, α<sub>IIb</sub>β<sub>3</sub> – Integrina α<sub>IIb</sub>β<sub>3</sub>. Adaptado de Neubauer K et al (13).

Tanto as moléculas com ação anticoagulante, como procoagulante sintetizadas pelas células endoteliais estão presentes no subendotélio. A Tabela 1 resume as diferentes moléculas existentes e as suas funções (13).

**Tabela 1:** Moléculas presentes no endotélio vascular com funções anticoagulante ou procoagulante. Adaptado de Neubauer K et al (13)

<b>Tipo de Ação</b>	<b>Moléculas</b>	<b>Função</b>
<b>Anticoagulante</b>	Sulfato de heparano (cofator da antitrombina)	Previne ativação das plaquetas e a coagulação
<b>Anticoagulante</b>	Inibidor da via do fator tecidual (TFPI)	Inibe o complexo FT/FVIIa/Xa
<b>Anticoagulante</b>	Trombomodulina (TM)	Inativa a trombina
<b>Anticoagulante</b>	Proteína C (+ Proteína S)	Inativa os fatores Va e VIIIa
<b>Anticoagulante</b>	Prostaglandina (PGI <sub>2</sub> ) e Óxido nítrico (NO)	Vasodilatadores: inibem a agregação plaquetária
<b>Procoagulante</b>	Endotelina	Estimula agregação plaquetária e a vasoconstrição
<b>Procoagulante</b>	FvW	Glicoproteína que tem um papel importante na adesão plaquetária
<b>Procoagulante</b>	Trombospondina	Promove a agregação plaquetária
<b>Procoagulante</b>	Fator tecidual (FT)	Inicia a ativação dos mecanismos de coagulação. Expresso em vários órgãos (pele, cérebro, intestino, pulmão, placenta, membrana adventícia dos vasos sanguíneos, monócitos, macrófagos e fibroblastos).

### 1.1.3. Fatores da coagulação

O papel dos fatores da coagulação na geração de trombina, que culminam na conversão do fibrinogénio em fibrina e na formação de coágulo, foi descoberto nas décadas de 40 e 50 do séc. XX. A sua nomenclatura inicial deveu-se quer a epónimos, quer ao estudo da(s) proteína(s) precursora(s), ou ainda à doença hemorrágica/prótrombótica. Atualmente a nomenclatura utilizada para designar os fatores da coagulação consiste no uso de numeração romana, de acordo com a sua ordem de descoberta, como se pode observar na Tabela 2 (5).

**Tabela 2:** Fatores da coagulação. Adaptado de Palta S et al (9).

Fator Coagulação		Função	Semi-vida Plasmática (h)	Concentração Plasmática(mg/L)
Número	Nome			
I	Fibrinogénio	Formação do coágulo	90	3000
II	Protrombina	Ativação dos fatores I, V, VII, VIII, XI, XIII, Proteína C, Plaquetas	65	100
III	Fator Tecidual	Cofator FVIIa	-	-
IV	Cálcio	Facilita a coagulação através da ligação dos fatores aos fosfolípidos	-	-
V	Pró-acelerina, Fator lábil	Cofator do complexo Protrombinase – X	15	10
VI	Não designado			
VII	Fator estável, Pró-convertina	Ativa os fatores IX, X; circula como zimógeno	5	0.5
VIII	Fator Anti hemofílico A	Cofator do complexo tenase – IX	10	0.1
IX	Fator Anti-hemofílico B ou Fator Christmas	Ativa o FX: Forma o complexo tenase com o FVIII	25	5
X	Fator Stuart-Prower	Ativa o FII: Complexo Protrombinase com o FV	40	10
XI	Precursor da Tromboplastina	Ativa o FIX	45	5
XII	Fator de Hageman	Ativa os FXI, FVII e a Precalicroína		-
XIII	Fator estabilizador da fibrina	Estabilização das malhas de fibrina	200	30
XIV	Pré-calicroína	Ativa o FXII Cliva o HMWK	35	
XV	HMWK (Cininogénio alto peso molecular, <i>High molecular weight Kininogen</i> )	Cofator	150	
XVI	Fator de von Willebrand (FvW)	Ligação ao FVIII, intervém na adesão das plaquetas ao subendotélio	12	10 µg/mL
XVII	Antitrombina	Inibe o FIIa, Xa e outras proteases	72	0.15-0.2 mg/mL
XVIII	Cofator da heparina II	Inibe o FIIa	60	-
XIX	Proteína C	Inativa o FVa e FVIIIa	0.4	-
XX	Proteína S	Cofator ativador da Proteína C		-
-	Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI)	Protege o coágulo da fibrinólise		-

A maioria dos fatores da coagulação são produzidos no fígado. Circulam na corrente sanguínea na forma de zimogénios (forma inativa); após clivagem por protéases plasmáticas e sua ativação, é adicionado o sufixo “a” para denotar a ocorrência deste processo (6,9). Os fatores da coagulação podem ser classificados em 3 grupos: família do fibrinogénio, dependentes da vitamina K e família de contato.

No primeiro grupo estão incluídos os fatores: Fibrinogénio ou FI, o FV, o FVIII e o FXIII, consumidos durante o processo de formação do coágulo.

No grupo dos dependentes da vitamina K estão incluídos os fatores: FII, FVII, FIX e FX. Como o nome indica, são dependentes da vitamina K, pois necessitam de carboxilação de resíduos específicos de ácido glutâmico, através da vitamina K (cofator), para formar o ácido-gama-carboxiglutâmico, aminoácido presente nos fatores de coagulação e que se apresenta ligado ao cálcio.

No grupo da família de contato, os fatores incluídos são: FXI, FXII, précalicreína e o HMWK. Não são consumidos durante o processo de formação de coágulo e estão envolvidos na via intrínseca da coagulação (9).

#### 1.1.4. Anticoagulantes Naturais

De forma a manter a homeostase sanguínea, são produzidos anticoagulantes naturais: Antitrombina, Proteína C, Proteína S e o Inibidor da via do fator tecidual, que têm um papel regulador sobre atividade procoagulante, evitando a ativação excessiva da formação de trombos e a oclusão vascular (9).

A Antitrombina é produzida no fígado, e, através do Sulfato de heparano presente nas células endoteliais ao ser ativada liga-se e inativa os fatores FIXa, FXa, FXIa e FXIIa.

A Proteína C, uma proteína dependente da vitamina K, produzida no fígado, é ativada pelo complexo trombomodulina – trombina, e necessita da Proteína S como cofator para inativar os FV e FVIII. A atividade da Proteína C é potenciada pela ligação ao recetor da Proteína C (APC) às células endoteliais (9,14).

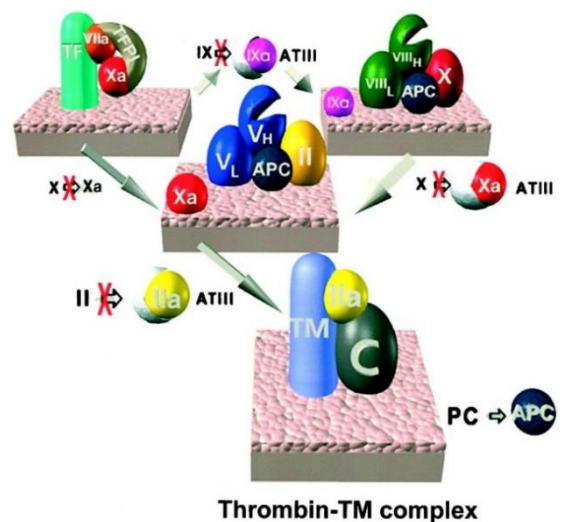


Figura 5: Representação esquemática da atividade dos anticoagulantes naturais na regulação da atividade procoagulante. Adaptado de Mann KG et al (14)

Por sua vez, a Proteína S é produzida nas células endoteliais e nos hepatócitos. É também dependente da vitamina K. Cerca de 40% da Proteína S, circula livre no plasma. Os restantes 60% circulam em complexos com o C4b, não atuando como cofator da Proteína C (9,14).

O Inibidor da via do fator tecidual é um polipéptido produzido pelas células endoteliais ou por plaquetas ativadas, que intervém na via extrínseca da coagulação, inibindo o complexo FVIIa/FT/Xa (9,14). Na Figura 5 observam-se os mecanismos reguladores da coagulação.

### 1.1.5. Sistema Fibrinolítico

Este sistema é ativado simultaneamente com o processo de formação do coágulo, para limitar a extensão do coágulo, através da fibrinólise, como podemos observar na Figura 6 (9).

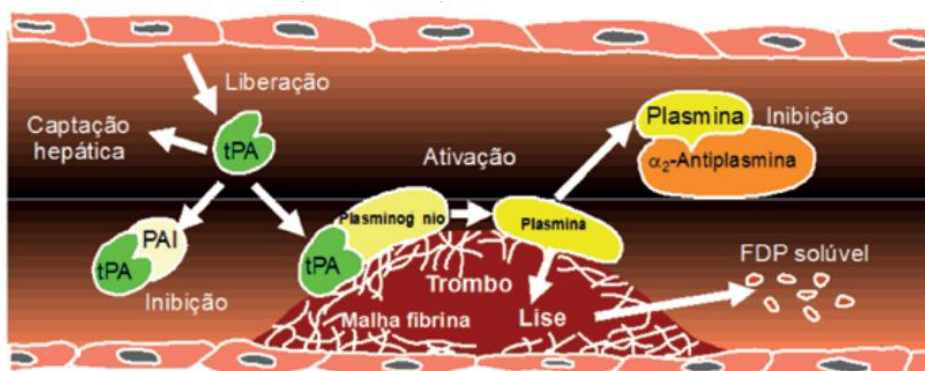


Figura 6: Visão geral do sistema Fibrinolítico. Legenda: PAI – Inibidor do ativador do plasminogénio, t-PA – ativador do plasminogénio do tipo tecidual. Adaptado de Amaral Baruzzi AC et al (15)

O processo de fibrinólise é iniciado pela libertação de duas serinoproteases: o ativador do plasminogénio do tipo tecidual (t-PA) e o ativador do plasminogénio do tipo urocinase (u-PA), por parte das células endoteliais. Estas duas proteases convertem o plasminogénio em plasmina, que, por sua vez, degrada a fibrina em produtos de degradação da fibrina ou D-dímeros, levando à dissolução do coágulo (13).

Para manter o equilíbrio e evitar a hiperfibrinólise, as células endoteliais produzem dois fatores, o inibidor do ativador do plasminogénio e a alfa-2-antiplasmina.

O inibidor do ativador do plasminogénio impede a conversão do plasminogénio em plasmina, e a alfa 2 antiplasmina inibe a ação da plasmina, impedindo a degradação da fibrina (9).

## 1.2. Hemostase

A Hemostase é um processo complexo, e, apesar de amplamente estudado, persistem ainda dúvidas. Atualmente o processo de hemostase considera-se dividido em três fases: a Vasoconstrição, a Hemostase Primária e a Hemostase Secundária. Quando existe uma lesão vascular há uma alteração do fenótipo do endotélio de anti- para procoagulante, levando à libertação de quimiocinas pelas células endoteliais, que, juntamente com as plaquetas ativadas, irão provocar vasoconstrição. O músculo liso do vaso sanguíneo diminui o seu diâmetro, com conseqüente diminuição do fluxo, enquanto se forma o tampão plaquetário e ocorre o início do processo de coagulação (13).

Após a vasoconstrição inicia-se a Hemostase Primária, a qual leva em segundos à formação do trombo plaquetário no local da lesão – passo limitante na contenção das perdas sanguíneas (9). A formação do trombo plaquetário depende de três fases: a Adesão plaquetária, onde o FvW desempenha um papel primordial, permitindo a ligação entre o colagénio subendotelial e as plaquetas, seguidas da Ativação e Agregação plaquetárias. Aquando da lesão vascular, as células endoteliais libertam o FvW, armazenado nos Corpos Weibel-Palade, que se vai ligar ao colagénio exposto na parede do vaso sanguíneo. As plaquetas circulantes, através do recetor de superfície complexo GpIb/V/IX, vão interagir com o colagénio, funcionando o FvW como elo (Adesão) (9,13).

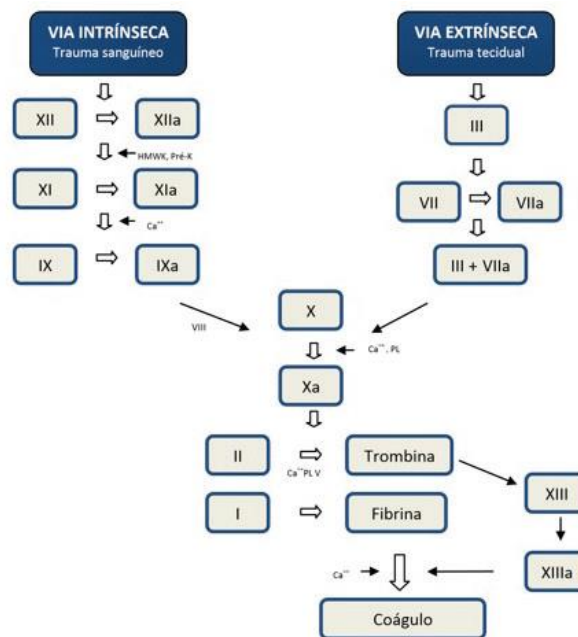
Após adesão, as plaquetas são ativadas (Ativação) e dá-se a sua desgranulação. O conteúdo granular, incluindo o Tromboxano A<sub>2</sub>, ADP, serotonina, cálcio, colagénio e trombina permitem o recrutamento e a adesão plaquetária, com a formação de uma monocamada plaquetária e posterior ativação do recetor de superfície da plaqueta complexo Gp IIb/IIIa (9,13).

A ativação do recetor de superfície da plaqueta (complexo Gp IIb/IIIa) vai permitir a ligação do fibrinogénio, formando uma ponte entre plaquetas ativadas e, permitindo uma maior estabilidade do trombo plaquetário – Agregação (13).

Na Hemostase Secundária ocorre a estabilização e reforço do trombo plaquetário, através da ativação de fatores da coagulação, levando à formação de trombina, e conversão do fibrinogénio em fibrina (13).

O Modelo Clássico da coagulação foi proposto em 1964 por Macfarlane, Davie e Ratnoff, que propuseram um modelo de cascata para explicar o processo da coagulação, conforme a Figura 7 (16). Neste modelo em cascata, a coagulação está dividida em duas vias:

extrínseca ou dependente do FT, e a intrínseca; ambas culminam na via comum. A via extrínseca ou dependente do FT é considerada o primeiro passo da cascata, sendo ativada quando existe uma lesão vascular, que leva à libertação do FT e sua ligação ao FVIIa e ao cálcio, promovendo a conversão do fator X em Xa (9). Alternativamente, ocorre a via intrínseca ou de contato, que é ativada através do contato com superfícies carregadas negativamente. Nesta via todos os fatores necessários estão presentes em circulação. Inicia-se com a ativação do FXII através da ação da Précalicreína, da Calicreína e do HMWK, que levam à ativação do FXI, e, posteriormente, ativação do FIX e do seu cofator, FVIII, culminando na ativação do FX (9). Por fim, na via comum, o FX ativado forma o complexo protrombinase com o seu cofator, FV, os fosfolípidos e o cálcio, que converte a protrombina em trombina. A trombina converte o fibrinogénio em fibrina, e, simultaneamente, ativa o FXIII que estabiliza as malhas de fibrina, evitando a fibrinólise (9).



**Figura 7:** Modelo Clássico da Coagulação. Legenda: Pré-K-Fator de Fletcher; Ca<sup>++</sup>-ião cálcio; PL-Fosfolípidos plaquetários. Adaptado de Gonçalves de Souza A et al (17).

O Modelo Clássico da coagulação é muito útil na compreensão dos testes de coagulação *in vitro*, no entanto, falha na explicação de algumas observações *in vivo*. Exemplificando, o prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT) nem sempre está associado a tendência hemorrágica. Enquanto, os défices de FXII e HMWK não cursam com fenótipo hemorrágico, os défices de FVIII, FIX e FXI estão associados a

coagulopatia de gravidade variável. Seria expectável de acordo com este modelo que a via extrínseca anulasse a tendência hemorrágica dos défices de fatores (por serem vias independentes), no entanto, tal não se verifica *in vivo* (9).

Para responder às questões colocadas acerca dos mecanismos da coagulação *in vivo* foi proposto um modelo da coagulação baseado nas superfícies celulares, na qual foi descrita uma interação entre os fatores da coagulação e a membrana celular das plaquetas. Este modelo está dividido em três etapas principais: a iniciação, a amplificação e a propagação, como representadas na Figura 8 (18).

Quando existe quebra da integridade vascular, o FT do subendotélio é exposto ao FVII, ativando-o formando o complexo tenase (FT/FVII) (5).

O complexo FT/FVII é responsável por ativar pequenas quantidades de FIX e FX. O FXa vai ligar-se ao seu cofator, o FV, e forma um complexo protrombinase, que tem como papel transformar pequenas quantidades de protrombina em trombina – iniciação (5).

A pequena quantidade de trombina gerada na fase de iniciação ativa as plaquetas e intervém na dissociação do complexo FvW/FVIII, provocando uma reação de *feedback* – amplificação. A ativação das plaquetas leva a uma alteração da permeabilidade membranar permitindo a entrada de cálcio e a libertação de vários fatores de coagulação, nomeadamente, FV e FVIII. A trombina gerada vai quebrar o complexo FvW/FVIII, possibilitando a intervenção do FvW na adesão e agregação plaquetárias. Durante esta etapa, existe também a ativação do FXI na superfície da plaqueta (16,18).

Na última etapa – a propagação – há recrutamento de plaquetas para o local da lesão e formação dos complexos tenase e protrombinase na superfície das plaquetas ativadas. O FXI ligado às plaquetas vai ativar o FIX, que se liga ao FVIII na superfície plaquetária, formando o complexo tenase. O Complexo FIX/FVIII ativa o FX, que se liga ao FV na superfície plaquetária e forma o complexo protrombinase, responsável por converter uma grande quantidade de

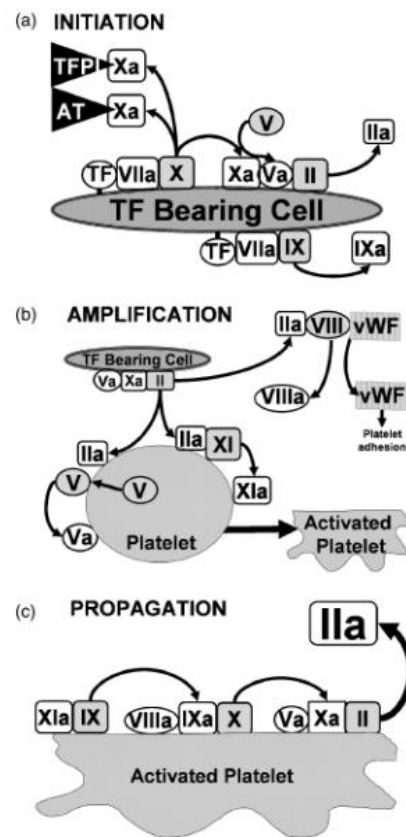


Figura 8: Modelo da coagulação baseado em superfícies celulares. Adaptado de Smith SA. (5)

protrombina em trombina, e posteriormente converter o fibrinogénio em monómeros de fibrina, de modo a consolidar o tampão plaquetário inicial num coágulo estável de fibrina (16,18).

De forma a garantir a estabilidade do coágulo de fibrina, a trombina gerada ativa dois componentes importantes: o FXIII e o Inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI). O FXIII liga-se de forma covalente aos polímeros de fibrina, estabilizando o coágulo (5).

### 1.3. Caracterização/enquadramento do Evento Trombótico venoso

O TEV resulta de uma de interação complexa entre diversos intervenientes, desde a superfície endotelial, às plaquetas, aos fatores da coagulação e micropartículas e à presença de fatores de risco congénitos e/ou adquiridos, que levam conjuntamente à formação de trombos, os quais se podem propagar pela corrente sanguínea para outros locais. Esta condição clínica pode ocorrer em qualquer ponto do sistema venoso, no entanto, é predominante nos membros inferiores (TVP) (19,20). Na TVP dos membros inferiores pode haver mobilização do coágulo ou de um fragmento, com conseqüente embolização no tronco pulmonar, provocando o TEP (21). Na Figura 9 podemos observar as interações no desenvolvimento da trombose venosa.

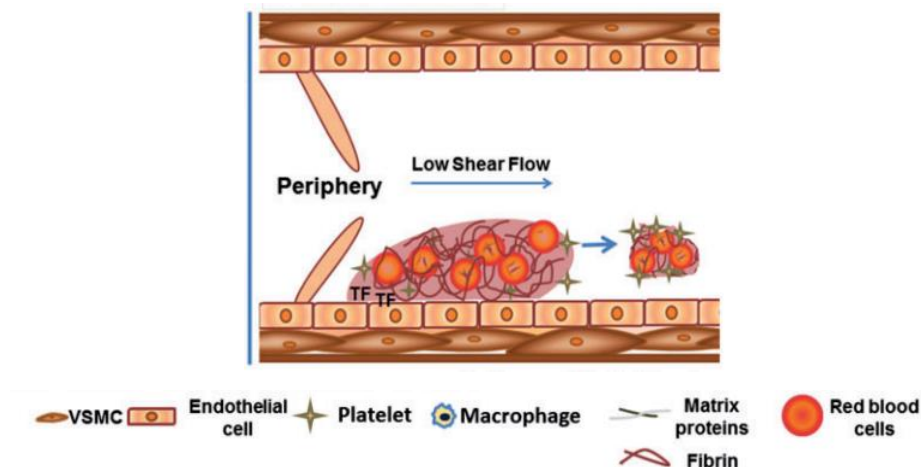


Figura 9: Interações no desenvolvimento da trombose venosa. Adaptado de Koupenova M et al (22)

#### 1.3.1. TEV – Epidemiologia

O TEV afeta cerca de 10 milhões de pessoas em todo o mundo (19). Apesar de várias campanhas de sensibilização para a sua prevenção, será provavelmente ainda

subdiagnosticado, pela não suspeição clínica atempada, devido a sintomas inespecíficos, também presentes noutras doenças, pelo que não é possível precisar com exatidão a sua taxa de incidência (19). Estima-se uma incidência anual na população europeia de cerca de 104 a 183 casos por 100 000 habitantes, sendo considerada a terceira doença cardiovascular mais frequente (2).

Anualmente, na população europeia, o TEP é responsável por cerca de 8-13 mortes por 1000 mulheres e 2-7 mortes por 1000 homens, com idades compreendidas entre 15 e 55 anos(19).

Cerca de dois terços dos casos de TEV manifestam-se por TVP, e, um terço, por TEP, precedido ou não de TVP. As consequências variam entre a síndrome pós-trombótica, e, no limite, a morte. Mesmo sem um desfecho fatal, o TEV condiciona muitas vezes diminuição da qualidade de vida dos doentes (2,19).

Cerca de 25% dos doentes que sofrem um TEV têm um segundo evento trombótico no prazo de 5 anos, porém, esta incidência varia de acordo com os fatores de risco genéticos ou adquiridos apresentados pelo doente (23).

Em Portugal não existem dados suficientes acerca da epidemiologia do TEV. Em 2016 foi publicado um estudo com base nos dados da Administração Central do Sistema de Saúde (ACSS 2003-2013), com o objetivo de caracterizar o TEP em internamento hospitalar e avaliar a sua mortalidade intra-hospitalar (3).

Neste estudo foi observado que entre 2003 e 2013 houve 35 200 episódios de internamento de adultos, tendo sido o TEP o diagnóstico principal em 67% dos internamentos. A taxa de incidência estimada em 2013 foi de 35 casos por 100 000 habitantes. No período analisado, apesar do número anual de episódios ter aumentando ao longo do tempo, a taxa de mortalidade intra-hospitalar diminuiu, pela menor gravidade dos episódios (reconhecimento precoce do evento) e melhoria da terapêutica instituída (3).

### **1.3.2. TEV – Fisiopatologia**

O TEV foi mencionado pela primeira vez 600 a.C., por Sushruta Samhita, um cirurgião italiano que descreveu *“Um inchaço, ..., assume uma tonalidade amarelada. É macio e flutua sob pressão, e é marcado por um acúmulo de sangue em seu corpo..., acompanhado por uma sensação de queimadura, a dor de sucção”* (21).

Vários séculos depois, em 1884, Rudolf Ludwig Karl Virchow, propôs a tríade posteriormente designada com o seu nome, em que identificou a hipercoagulabilidade, a lesão do endotélio e a estase venosa como fatores responsáveis pela trombose venosa (Figura 10) (24).



**Figura 10:** Tríade de Virchow. Adaptado de Alves ECP et al (21)

Apesar da investigação contínua, a fisiopatologia do TEV ainda não está completamente esclarecida. Nos últimos anos, em relação com a pandemia COVID-19, consubstanciou a ação sinérgica entre trombose e inflamação, apresentando-se esta última como fator de risco para o TEV. Devido a fatores intrínsecos e/ou extrínsecos, que atuam conjuntamente, ocorre lesão endotelial, que desencadeia o processo de formação do trombo patogénico. Com o episódio agudo de trombose há libertação de citocinas pró-inflamatórias (p.e. fator de necrose tumoral alfa,  $TNF-\alpha$ ), outras quimiocinas, a par da atividade leucocitária (atividade das selectinas), que desencadeiam inflamação na parede endotelial e do próprio trombo, levando ao seu crescimento e organização (21).

As selectinas são glicoproteínas que surgem à superfície de células ativadas e têm um papel de sinalização e facilitação da adesão das células às áreas de lesão e inflamação (21).

Existem três tipos: as L-selectinas, presentes nos leucócitos; as P-selectinas, presentes nas plaquetas e células endoteliais e as E-selectinas, presentes no endotélio (21). Conforme expresso na Figura 11, quando a P-selectina se liga ao seu ligando - Ligando da Glicoproteína P-Selectina 1 (PSGL-1) - são produzidas micropartículas (fosfolípidos da membrana celular), as quais promovem a amplificação do processo de coagulação e levam ao

crescimento do trombo, através da estimulação da formação de fibrina pelo complexo FT/FVIIa (19,21).

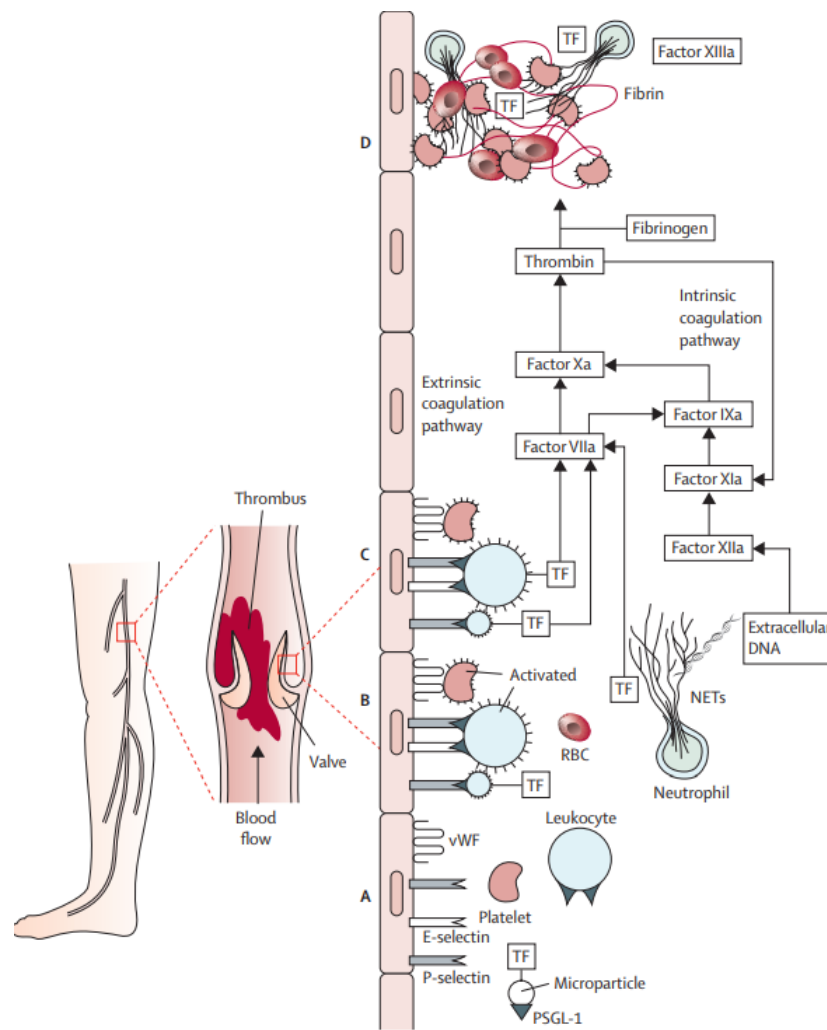


Figura 11: Fisiopatologia do TEV. Adaptado de Khan F et al (19)

A trombofilia é caracterizada por uma alteração da coagulabilidade do sangue (estado de hipercoagulabilidade) devido a anomalias hereditárias ou adquiridas da hemostase que predispõe à trombose venosa (23).

### 1.3.3. TEV – Fatores de risco

A incidência de TEV aumenta com o envelhecimento, sendo a idade um dos maiores fatores de risco para TEV (25). O TEV ocorre predominantemente em idade avançada – é muito raro antes do final da adolescência (26).

Na população pediátrica, o grupo que tem um maior risco de ocorrência de complicações tromboembólicas são as crianças com comorbidades, sobretudo os recém-nascidos portadores de cateter venoso central (CVC); a incidência de TEV diminui ao longo do primeiro ano de vida, e há um segundo pico de aumento de incidência na adolescência (26).

A ocorrência de TEV nas mulheres em idade fértil prende-se sobretudo com fatores inerentes à gestação e/ou periparto, ou ainda devido à toma de anticoncepcionais orais combinados. Comparando ambos os sexos, em idade pós-menopáusia, a incidência de TEV é superior no sexo masculino, como podemos observar na Figura 12 (19).

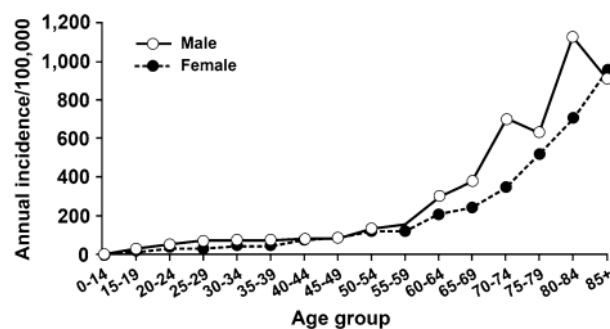


Figura 12: Incidência anual de TEV distribuída por sexo e idade. Adaptado de Heit JA et al (2)

Considerando outros fatores de risco para TEV, constata-se a contribuição do grupo sanguíneo e da etnia – a nível global a incidência do TEV na população Afro-americana tende a ser mais elevada, contrastando com Asiática e Indígena Americana que se verifica uma menor incidência (27).

Atualmente, os fatores de risco associados ao TEV são classificados como genéticos e adquiridos, como podemos observar na Tabela 3, e representam cerca de 50% a 60% dos casos reportados (28,29).

**Tabela 3:** Fatores de risco do TEV, Adaptado de F. R. Rosendaal (29)

Riscos Adquiridos			Riscos Genéticos
Médicas	Fármacos	Comportamentais	
Idade	Contracetivos orais	Obesidade	Grupos sanguíneo não-O
Cirurgia	Fertilização in vitro	Viagens de longo curso	Deficiência de Antitrombina
Neoplasias	Fármacos para quimioterapia	Tabagismo	Deficiência de Proteína C
Trauma	Fármacos psicotrópicos e drogas de uso recreativo	Sedentarismo	Deficiência de Proteína S
Imobilização	Talidomida	Cafeína	Fator V de Leiden (rs6025)
Dispositivos implantados (p.e.CVC)	Corticosteróides	Álcool	Protrombina G20210A (rs1799963)
Neoplasias mieloproliferativas			Fibrinogénio 10034 T (rs2066865)
Trombocitopenia induzida pela heparina			
Hipertiroidismo			
Síndrome de Cushing			
Cirurgias ortopédicas			
Anticoagulante Lúpico			

No grupo dos fatores de risco genético, a homozigotia para o déficit de antitrombina, proteínas C e S condiciona um fenótipo pró-trombótico grave, embora muito raro na população (29).

Outros fatores de risco genético, e, portanto, não modificáveis, incluem os que provocam ganho de função e aumentam o risco de ocorrência do evento trombotico em 2 a 8 vezes, tais como a presença de grupo sanguíneo não – O (níveis de FVIII elevados), variantes patogénicas Fator V Leiden, Protrombina G20210A e Fibrinogénio 10034T. Estas mutações com ganho de função são relativamente frequentes na população geral (29).

Na Tabela 4 podemos observar a frequência dos fatores de risco genético na população geral em doentes que sofreram um evento trombotico venoso, a par do aumento do risco relativo de TEV.

**Tabela 4:** Frequência dos fatores de risco genéticos na população, Adaptado de Middeldorp S (23)

	Deficiência Antitrombina	Deficiência Proteína C	Deficiência Proteína S	Fator V Leiden	Protrombina G20210A
Prevalência na população em geral	0,02%	0,2%	0,03%-0,13%	3%-7%	0,7%-4%
Risco Relativo para um TEV	5-10	4-6,5	1-10	3-5	2-3
Risco relativo para TEV recorrente	1,9-2,6	1,4-1,8	1,0-1,4	1,4	1,4

Como podemos observar na Tabela 3, os fatores de risco adquiridos estão divididos em três categorias: médicos, farmacológicos e comportamentais. Dentro dos fatores de risco associados a comorbilidades médicas, a causa mais comum são as neoplasias, que aumentam o risco de ocorrência de TEV em mais de 50%, nos primeiros 6 meses após o diagnóstico da doença, dependendo da neoplasia (29).

Uma outra causa de aumento de risco são as cirurgias, razão pela qual, está implementada a prescrição de trombofilaxia no período perioperatório (4,29).

Outros fatores de risco modificáveis – comportamentais – incluem os hábitos, tais como o sedentarismo, o tabaco, o álcool, a cafeína e a obesidade (29).

A presença de um fator de risco genético ou adquirido, caracterizado como trombofilia, não é preditiva da ocorrência de um evento trombótico, no entanto, aumenta a probabilidade da sua ocorrência. No caso das trombofilias hereditárias, a história familiar desempenha igualmente um papel relevante (4).

#### **1.3.4. O papel desempenhado pelos FVIII e FvW**

Cerca de 40% dos casos de TEV diagnosticados são de etiologia idiopática (28). A literatura tem sugerido que a presença de valores elevados de FVIII e FvW no plasma de doentes que sofreram um evento trombótico venoso pode representar um fator de risco. O primeiro estudo em que o FVIII foi associado ao TEV foi o *The Leiden Thrombophilia Study* (30), no qual foram estudados 301 doentes que tinha sofrido um TEV há mais de 6 meses. Os autores concluíram que níveis plasmáticos de FVIII > 150 IU/dL estavam associados a um aumento de 5 vezes do risco de ocorrência de um evento trombótico venoso, quando comparados com valores de FVIII inferiores a 100 IU/dL (e portanto, em valores fisiológicos) (30–32).

O FVIII e o FvW são indissociáveis na sua ação. Durante muitos anos o FVIII foi associado apenas à Hemofilia A – déficit de fator. Todavia, valores supra-fisiológicos de FVIII podem associar-se à trombose venosa (31).

O FvW é uma proteína multimérica presente nas plaquetas e células endoteliais e o seu papel principal é a adesão das plaquetas aos locais de lesão vascular. Uma outra função do FvW é ligar-se ao FVIII, protegendo-o de inativação, por degradação proteolítica, como podemos observar na Figura 13 (33,34).

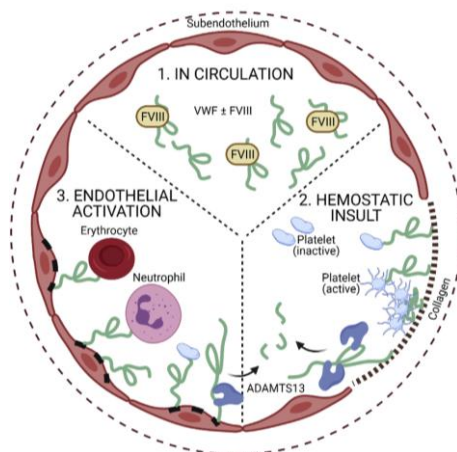
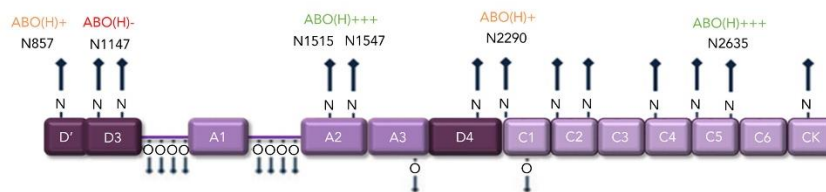


Figura 13: As três funções extracelulares do FvW. Adaptado de Michels A et al (35)

Ambas são proteínas de fase aguda, ou seja, em estados inflamatórios, de stress e pós-TEV aumentam, pelo que é necessário realizar os estudos fora da fase aguda (3–6 meses após o evento), tal como os outros estudos de trombofilia (31,34). Estudos observacionais constataram que os níveis de FVIII e FvW aumentam com a idade, sendo considerados um fator de risco de TEV dependente da dose nos idosos (31).

Através de estudos populacionais observou-se que os níveis de FVIII e FvW eram influenciados pela etnia, verificando-se valores mais elevados em Afro-americanos do que nos Caucasianos. O mecanismo fisiológico que justifique esta observação ainda não é claro, no entanto, pensa-se que estará relacionado com percentagem de indivíduos do grupo O na população caucasiana (31).

Existe também uma relação entre os valores plasmáticos dos FVIII e FvW e os grupos sanguíneos. Vários estudos concluíram que indivíduos do grupo não-O (grupos A, AB e B) têm valores de FVIII e FvW mais elevados, em comparação com indivíduos do grupo O. Isto deve-se aos determinantes antigénicos A e B estarem ligados a cadeia N de oligossacarídeos dos monómeros de FvW, Figura 14 (32).



**Figura 14:** Ligação dos determinantes antigênicos A e B aos monômeros de FvW. Adaptado de Ward SE, et al (36)

Através da literatura recente, podemos concluir que níveis de FVIII e FvW elevados são não só um fator de risco para a ocorrência de um primeiro evento trombótico venoso, mas também estão associados a um aumento significativo do risco de desenvolver episódios trombóticos recorrentes (31).

Apesar de existirem alguns estudos em que se observa a associação do FVIII e FvW com o TEV, o seu mecanismo fisiopatológico ainda não está completamente descrito, assim como o papel independente do FvW no TEV (33,37).

## **2. Objetivo**

Este estudo teve como objetivo verificar se valores elevados dos fatores da coagulação, FVIII e FvW, poderão vir a ser considerados fatores de risco associados a um evento trombótico venoso em doentes que tinham tido um TEV há mais de 3 meses, sem trombofilia diagnosticada e que tivessem sido referenciados para o Serviço de Imunohemoterapia Centro Hospitalar e Universitário de São João (CHUSJ).

## **3. Métodos**

Realizou-se um estudo caso–controlo. A população em estudo consistiu em doentes que tinham sofrido um evento trombótico venoso há mais de 3 meses sem trombofilia identificada (n=12). A população controlo foi formada por dadores de sangue saudáveis, sem fatores de risco identificados para TEV (n=15).

O protocolo utilizado foi autorizado pelo Conselho de Administração do CHUSJ a 19 de janeiro de 2023, depois do parecer favorável da Comissão de Ética e do Encarregado de Proteção de Dados (Anexo 1). Os registos foram pseudo-anonimizados garantindo a confidencialidade dos valores utilizados.

### **3.1. Procedimento**

No processo de seleção da população e respetiva amostra a incluir no presente estudo foram aplicados critérios de inclusão e exclusão, a cada um dos grupos – doentes e controlo. Foram definidos como critério de inclusão:

- doentes diagnosticados com um evento trombótico venoso há mais de 3 meses, seguidos na Consulta Externa de Trombofilia do CHUSJ, entre 1 de novembro de 2022 e 30 de junho de 2023;
- idades compreendidas entre os 18 e os 60 anos;
- ausência das seguintes trombofilias/ fatores de risco: défice de Proteína C, Proteína S e Antitrombina, variante fator V de Leiden, variante protrombina G20210A; medicação prévia (contracetivos orais combinados); e não ter nenhum fator de risco adquirido previamente à ocorrência de TEV: cirurgia, trauma, gravidez e imobilização.

O não cumprimento de qualquer um destes fatores foi considerado fator de exclusão do estudo. Todos os doentes antes de serem reencaminhados para a Consulta Externa de

Trombofilia do CHUSJ, foram triados medicamente de forma a excluir os que tiveram o evento trombótico como consequência de doença aguda.

Todos os doentes incluídos no estudo suspenderam a toma de anticoagulantes orais cerca de 3 semanas antes da data da colheita.

Para o grupo controlo foram incluídos dadores de sangue saudáveis, sem fatores de risco conhecidos ou identificados na consulta pré-dáviva, com idade compreendida entre os 18 e 60 anos. Tal como no grupo de doentes, o não cumprimento de qualquer um destes fatores foi considerado fator de exclusão do estudo.

No desenho do estudo foram definidas as variáveis, que estão representadas na Tabela 5.

**Tabela 5:** Variáveis em estudo

<i>Variável</i>	<i>Operacionalização</i>	<i>Classificação</i>
Sexo	M/F	Qualitativa Nominal
Idade	Numérica	Quantitativa Contínua
Data do evento	Mês e Ano	Quantitativa Ordinal
Tipo de Trombose	Local do evento	Qualitativa Nominal
Grupo Sanguíneo	A, B, AB e O	Qualitativa Nominal
Hemoglobina	Numérica	Quantitativa Contínua
FVIII	Numérica	Quantitativa Contínua
FvW	Numérica	Quantitativa Contínua

### **3.2. Obtenção de resultados analíticos**

A informação relativa aos doentes seguidos na consulta de Trombofilia foi obtida através da recolha de dados clínicos nos programas de dados Sislab (Glintt) e S-clínico (SPMS). Para cada doente foram recolhidos os seguintes elementos: idade, sexo, data e local do evento trombótico, identificação de trombofilia (défice de proteína C, S ou antitrombina, variante fator V de Leiden ou variante protrombina G20210A), grupo sanguíneo, valor de hemoglobina e níveis de FVIII e Antígeno do FvW (FvW:Ag).

Os dados relativos à amostra de controlo para o estudo foram obtidos no Banco de Sangue do CHUSJ, tendo sido elaborado um panfleto informativo e um documento de consentimento informado (entregues conjuntamente na consulta pré-dáviva aos dadores de sangue) a explicar o âmbito do estudo (Anexos 2 e 3). Após verificação dos critérios de elegibilidade, esclarecimento do dador e assinatura de consentimento informado, foi colhida uma amostra de sangue venoso (4,5 mL) num tubo de citrato BD Vacutainer® (citrato sódio a 3,8%), que posteriormente foi centrifugado durante 15 minutos a 2000 g numa centrifuga refrigerada (SIGMA 4-16KS).

Os doseamentos de FVIII e de FvW:Ag foram realizados no equipamento Sysmex® CS-5100 System (Siemens), pelos métodos coagulométrico e imunoturbidimétrico, respetivamente, cujos princípios e explicações dos métodos estão referidos no Anexo 4.

Para além dos doseamentos dos fatores da coagulação, foram obtidos os seguintes dados dos doadores de sangue: sexo, idade, antecedentes pessoais, incluindo história pessoal e familiar de TEV e medicação habitual.

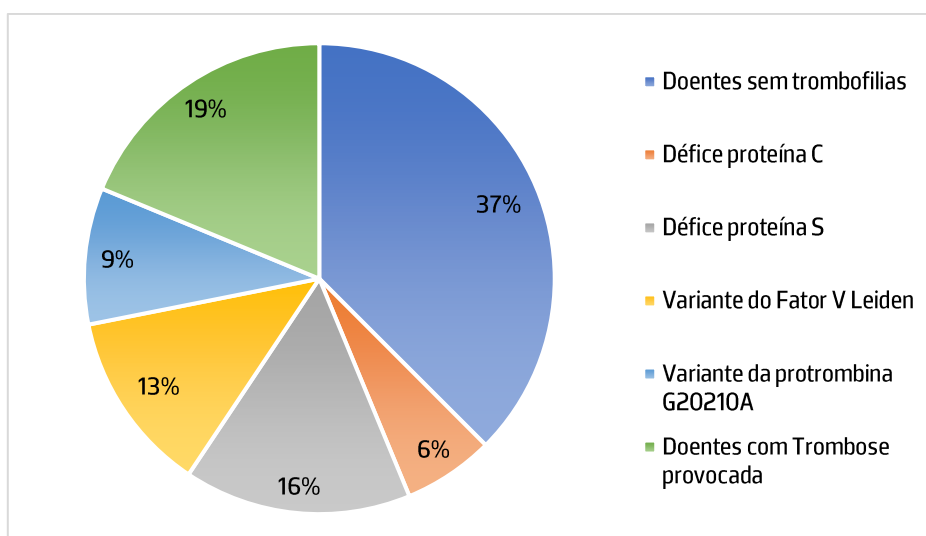
### **3.3. Tratamento e análise dos dados**

Todos os dados clínicos obtidos foram armazenados em base de dados do programa Excel (Microsoft Office), com acesso restrito, cumprindo os requisitos de confidencialidade.

Como a amostra do presente estudo é reduzida e não segue uma distribuição normal, no tratamento dos dados foi realizada uma análise estatística descritiva e inferencial com recurso a testes não paramétricos, nomeadamente o teste Mann-Whitney, para um nível de significância 0,05. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa *Statistical Package for Social Science* (IBM SPSS™ Statistics).

#### 4. Resultados

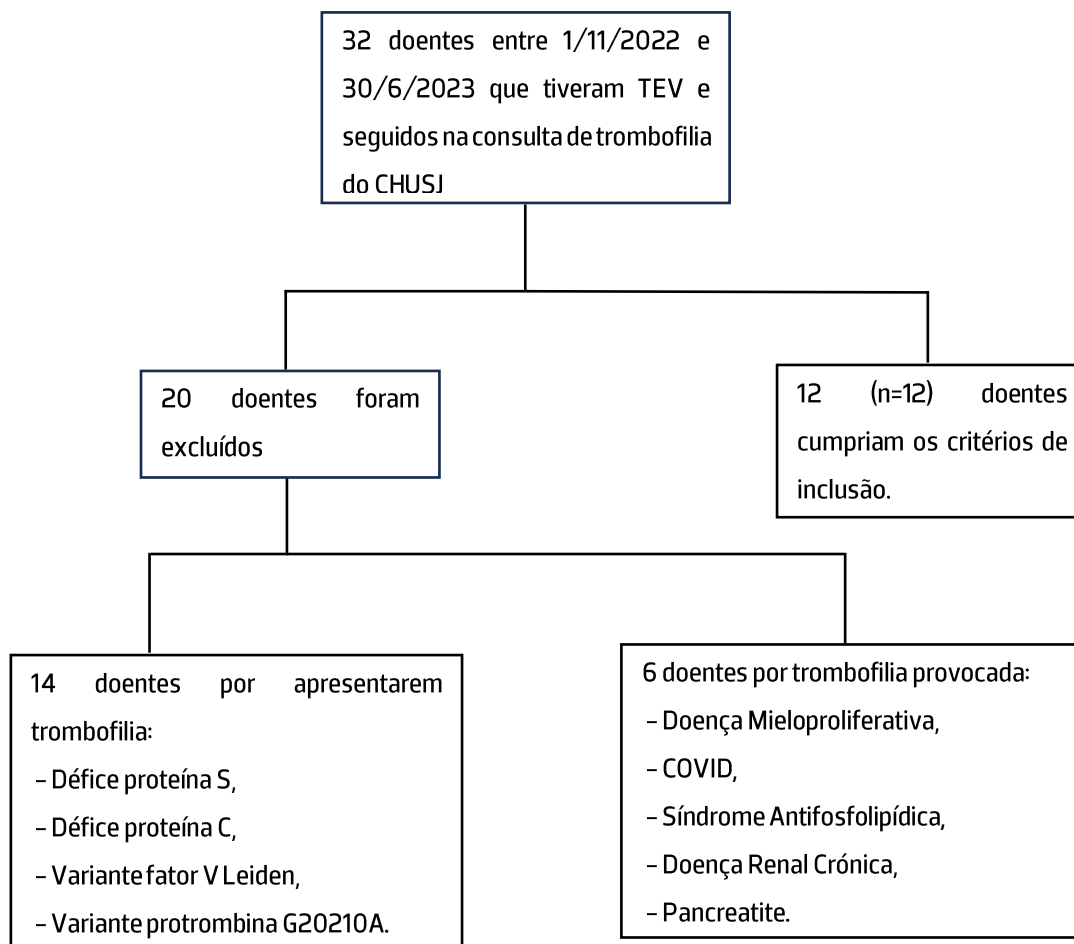
Entre o dia 1 de novembro de 2022 e o dia 30 de junho de 2023, foram recolhidos dados de 32 doentes que tinham sofrido um evento trombótico venoso e estavam a ser acompanhados na Consulta de Trombofilia do Serviço de Imunohemoterapia do CHUSJ. Após análise dos antecedentes e história da doença atual de cada doente, foram excluídos 20 doentes por apresentarem fatores de risco/trombofilia/trombose provocada: 2 doentes (6,25%) com défice de proteína C, 5 doentes (15,63%) com défice de proteína S, 4 doentes (12,50%) por apresentarem a variante fator V de Leiden, 3 doentes (9,38%) por apresentarem a variante protrombina G20210A e 6 doentes (18,75%) com trombofilia provocada, (Figura 15). Resultando numa amostra de 12 doentes, conforme expresso na Figura 16.



**Figura 15:** Avaliação dos fatores de inclusão/exclusão da amostra obtida entre 1 de novembro de 2022 e 30 de junho de 2023

Para a população de controlo do estudo foram selecionados 17 dadores de sangue saudáveis, no entanto, 2 foram excluídos por apresentarem níveis elevados do FVIII e FvW (os níveis elevados foram associados à prática de exercício pré-dádiva/stress e hábitos tabágicos pré-dádiva).

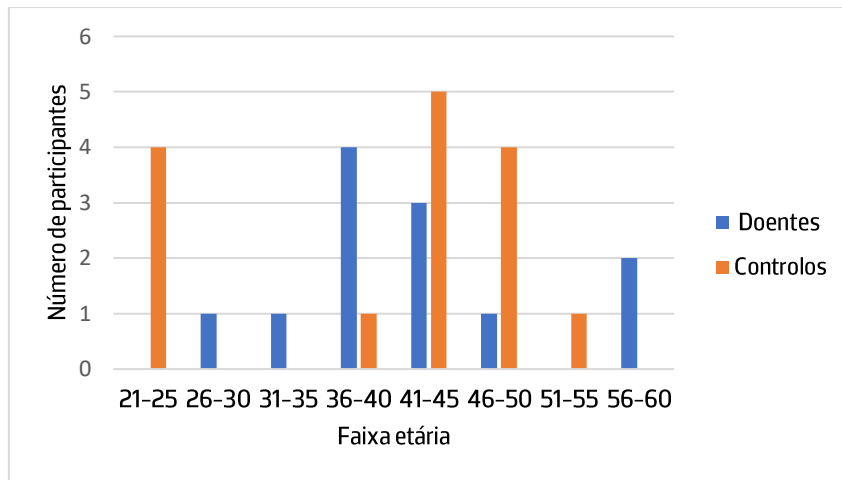
Como controlo deste estudo foi utilizada uma amostra de 15 dadores (n=15).



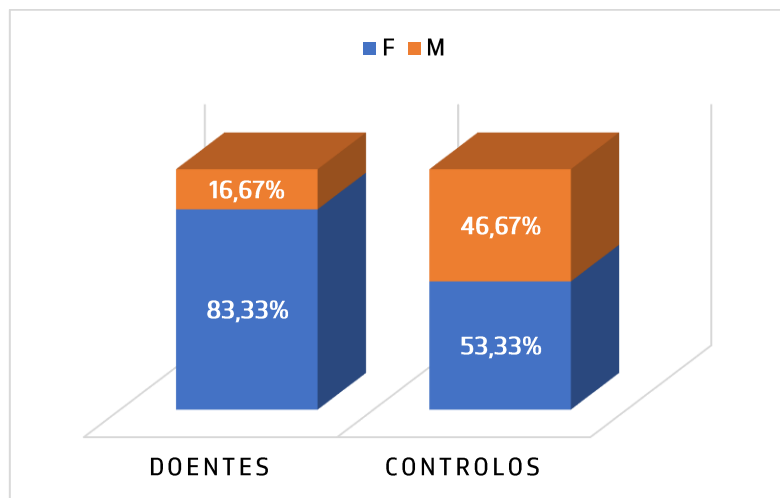
**Figura 16:** Fluxograma de seleção dos doentes.

A idade média dos doentes selecionados para o estudo foi de 41,5 anos (27-59 anos), com um desvio-padrão de 9,24 anos, sendo 83,3% do sexo feminino. A faixa etária em que houve mais eventos trombóticos venosos foi entre os 36 e 40 anos de idade.

Relativamente ao grupo controlo, a idade média dos dadores foi de 39,3 anos (21-55 anos), com um desvio-padrão de 11,07 anos. Neste grupo houve uma distribuição mais equilibrada da variável sexo: 53,33% indivíduos do sexo feminino e 46,67% do sexo masculino. Podemos observar estes dados nas Figuras 17 e 18.

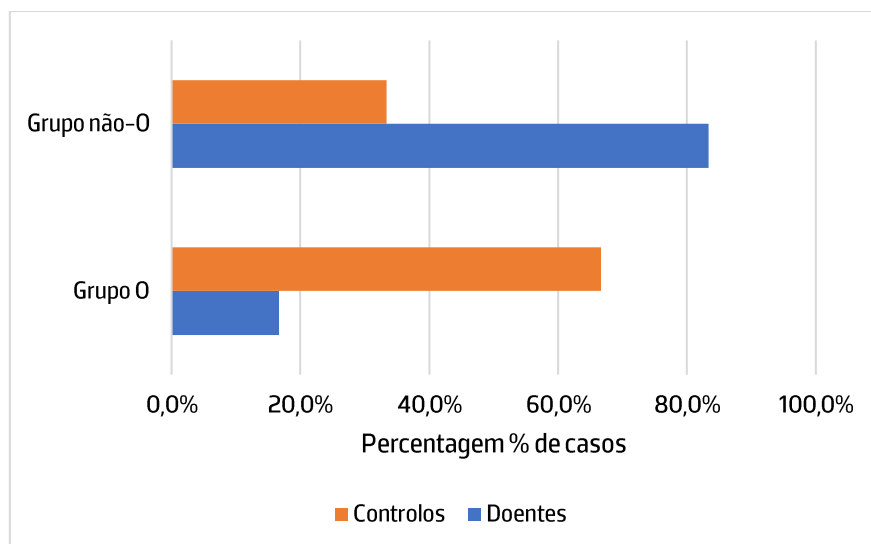


**Figura 17:** Distribuição dos doentes e controlos em função da faixa etária.



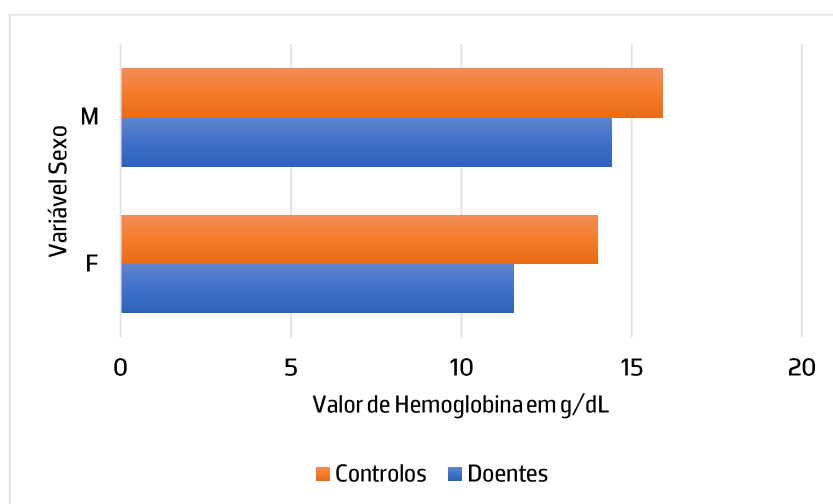
**Figura 18:** Distribuição dos doentes e controlos em função do sexo.

Relativamente ao grupo sanguíneo, no grupo dos doentes, 5 eram do grupo não-O (83,3%), 1 do grupo O (16,7%). Em 6 doentes não foi possível obter o grupo sanguíneo (não estava presente nos registos clínicos consultados), pelo que não foram considerados para análise desta variável. No grupo controlo, 5 dadores (33,3%) apresentavam grupo não-O e 10 eram do grupo O (66,7%), como podemos observar na Figura 19.



**Figura 19:** Distribuição dos doentes e controlos em função do grupo sanguíneo.

Ao analisar aos valores de hemoglobina, verificamos que a média de hemoglobina no grupo dos doentes do sexo feminino foi: 11,54 g/dL (12,3 - 14,2 g/dL) e nos doentes do sexo masculino foi: 14,4 g/dL (13,2 - 15,6 g/dL). Enquanto que no grupo controlo, a média de hemoglobina no sexo feminino foi: 14,0 g/dL (12,7 - 15,5 g/dL) e no sexo masculino foi: 15,9 g/dL (15,3 g/dL - 16,8 g/dL) [Figura 20].



**Figura 20:** Valores médios de hemoglobina (g/dL) no grupo dos doentes e controlos.

Neste estudo foram incluídos 7 doentes com TVP (58,3%), 3 doentes com TEP (25%), 1 doente com TVP+TEP (8,3%) e 1 doente com trombose da veia porta (8,3%) [Figura 21]. Após análise dos dados, podemos observar que a maioria dos eventos trombóticos

venosos ocorreram na época da primavera, com 6 casos no mês de junho (50%), 2 casos no mês de fevereiro (16,67%) e 1 caso nos meses de julho, agosto, outubro e novembro (8,33%), como refletido na Figura 22.

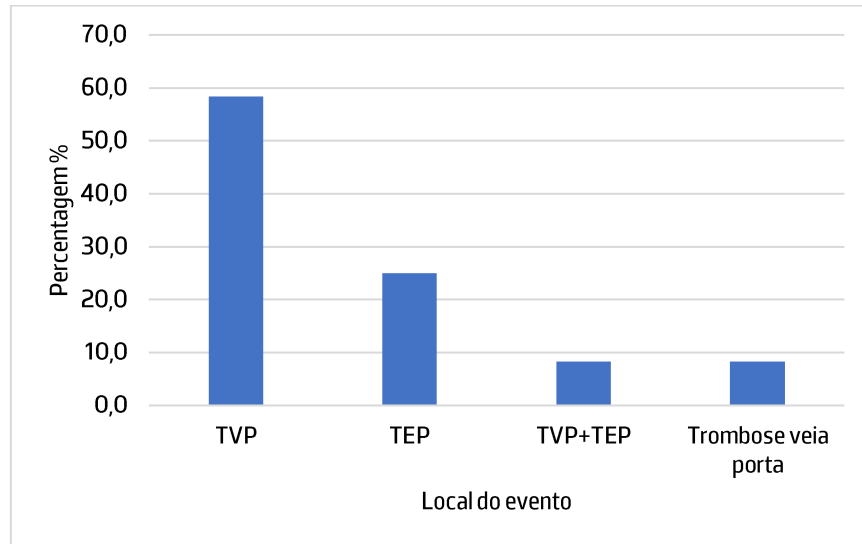


Figura 21: Frequência do tipo de evento trombótico venoso nos doentes.

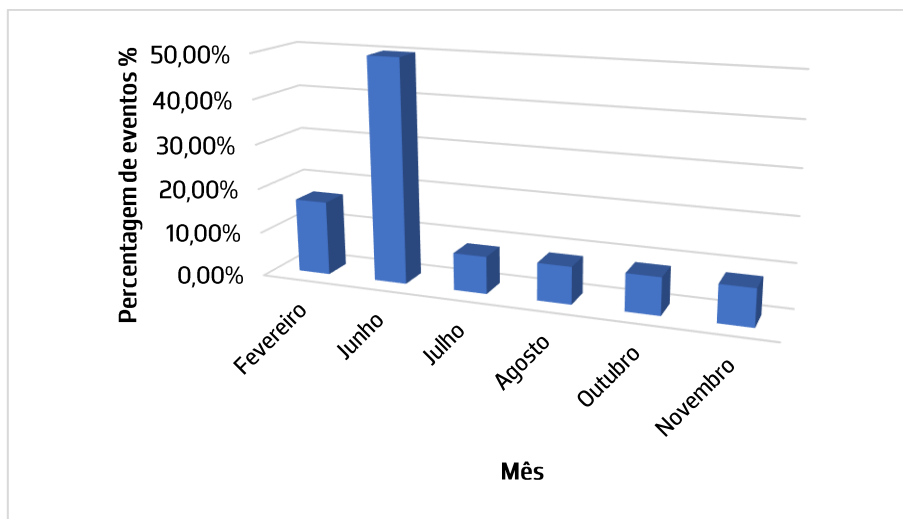


Figura 22: Distribuição dos eventos trombóticos venosos por mês de ocorrência.

#### 4.1. Papel do FVIII e do FvW no evento trombótico venoso

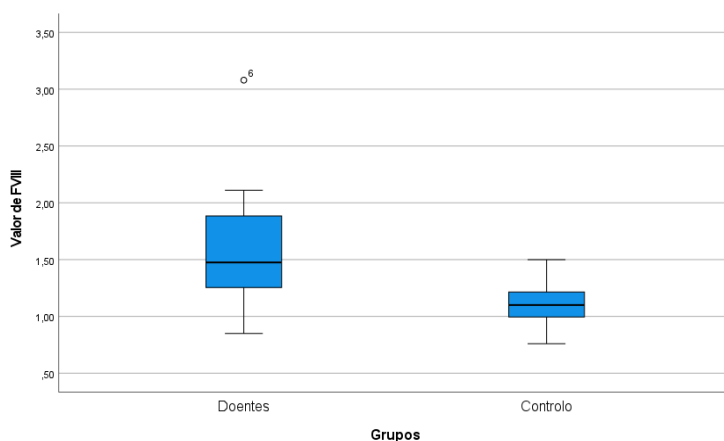
Na Tabela 6 podemos observar os valores e médias de FVIII e FvW por grupo: doentes e controlos.

**Tabela 6:** Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) distribuído por doentes e controlos.

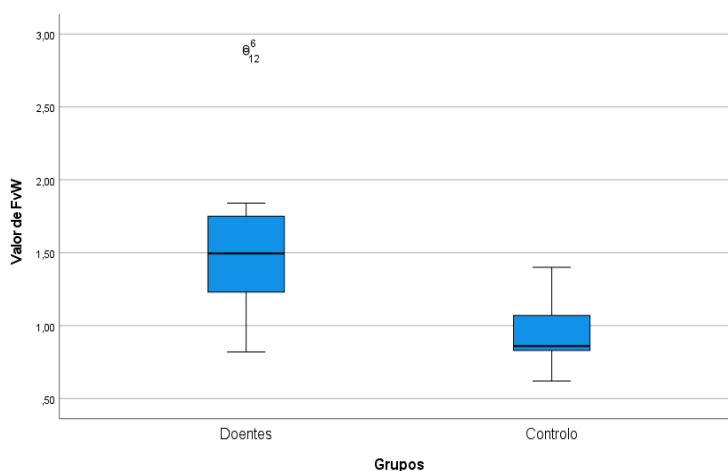
	<b>FVIII</b>				<b>FvW</b>			
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão
Doentes (n=12)	0,85	3,08	1,62	0,58	0,82	2,90	1,63	0,64
Controlos (n=15)	0,76	1,42	1,09	0,21	0,62	1,19	0,93	0,21

Em ambos os doseamentos foram encontrados 3 resultados *outliers*, 1 no doseamento do FVIII e 2 no doseamento de FvW, como podemos observar nas Figuras 23 e 24.

Após a realização do teste de Mann-Whitney para comparar valores de FVIII ( $p=0,002$ ) e FvW ( $p<0,001$ ) plasmáticos entre os grupos (doentes e controlo), verificamos que apresentam diferenças estatisticamente significativas.



**Figura 23:** Distribuição dos níveis FVIII (U/mL) por grupo.



**Figura 24:** Distribuição dos níveis de FvW (U/mL) por grupo.

Na Tabela 7 podemos observar a estatística descritiva dos níveis de FVIII e FvW por estação do ano. Não existem diferenças estatisticamente significativas nos valores de FVIII e de FvW entre as diferentes estações do ano: Primavera –  $p=0,182$  para o FVIII e  $p=1,000$  para o FvW; Verão –  $p=0,121$  para o FVIII e  $p=0,439$  para o FvW; Outono –  $p=0,739$  para FVIII e  $p=1,000$  para FvW; Inverno –  $p=0,505$  para FVIII e  $p=0,739$  para FvW.

**Tabela 7:** Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) segundo a estação do ano.

<i>Época do ano</i>	<i>FVIII</i>				<i>FvW</i>			
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão
Primavera (n=6)	0,85	3,08	1,55	0,79	0,82	2,90	1,75	0,92
Verão (n=2)	2,01	2,11	2,06	0,70	1,43	1,59	1,51	0,11
Outono (n=2)	1,37	1,54	1,45	0,12	1,30	1,56	1,43	0,18
Inverno (n=2)	1,34	1,76	1,55	0,29	1,42	1,84	1,63	0,29

Na Tabela 8 está representada a estatística descritiva do FVIII e FvW nos diferentes locais onde ocorreram os eventos. Ao realizar a comparação dos resultados obtidos nos doseamentos de FVIII e FvW por tipo de evento trombótico venoso observado, não encontramos diferenças estatisticamente significativas: TVP –  $p=0,425$  para FVIII e  $p=0,425$  para FvW; TEP –  $p=0,180$  para FVIII e  $p=0,180$  para FvW; TVP+TEP –  $p=0,827$  para FVIII e  $p=0,513$  para FvW; Trombose da Veia Porta –  $p=0,513$  para FVIII e  $p=0,513$  para FvW.

**Tabela 8:** Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) por tipo de evento.

<i>Local do evento</i>	<i>FVIII</i>				<i>FvW</i>			
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão
TVP (n=7)	0,85	3,08	1,75	0,73	0,82	2,90	1,76	0,82
TEP (n=3)	1,34	1,54	1,41	0,10	1,30	1,56	1,43	0,13
TVP+TEP (n=1)	-	-	1,76	-	-	-	1,84	-
Trombose da Veia Porta (n=1)	-	-	1,17	-	-	-	1,16	-

Devido ao reduzido número da amostra do presente estudo, observaram-se variáveis em que só foi registado 1 caso, pelo que nessa situação não é possível apresentar todos os dados da tabela anterior, nomeadamente o mínimo, o máximo e o desvio-padrão.

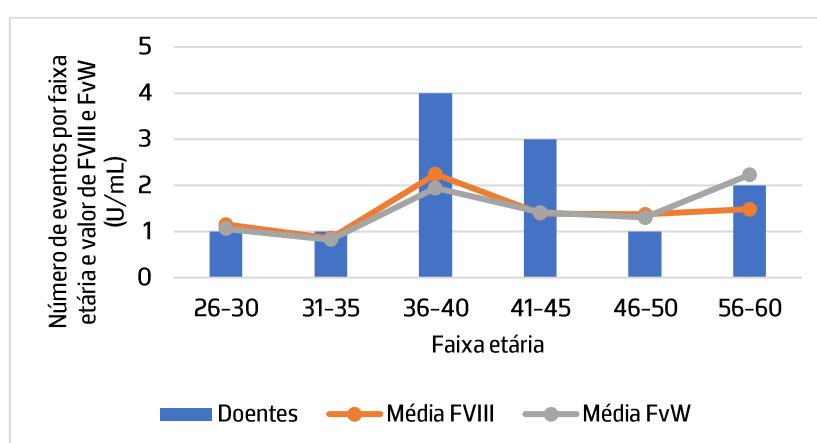
Seguidamente, fomos analisar os resultados dos fatores da coagulação em função do sexo nos dois grupos, doentes e controlo (Tabela 9).

**Tabela 9:** Estatística descritiva de FVIII e FvW (U/mL) em função do sexo, nos dois grupos.

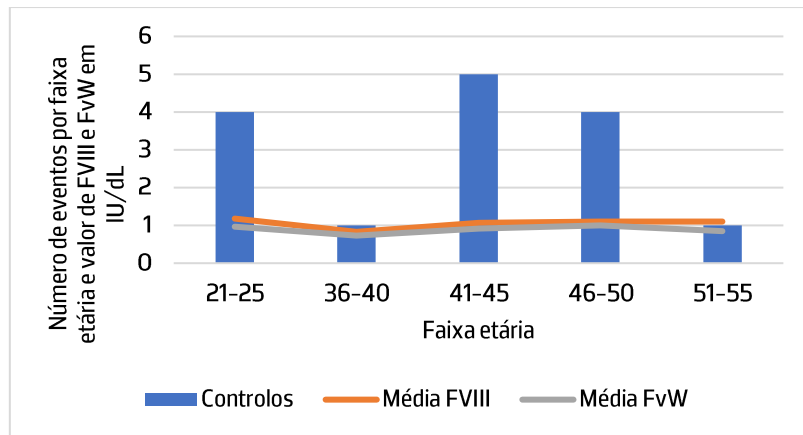
		FVIII				FvW			
		Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão
Casos	F (n=10)	0,85	3,08	1,64	0,64	0,82	2,88	1,51	0,56
	M (n=2)	1,41	1,66	1,54	0,17	1,66	2,90	2,28	0,87
Controlos	F (n=8)	0,79	1,42	1,13	0,26	0,73	1,15	0,90	0,14
	M (n=7)	0,76	1,27	1,06	0,16	0,62	1,40	0,96	0,26

Apesar das diferenças nos valores do FVIII e do FvW nos grupos dos doentes (FVIII:  $p = 0,830$ ; FvW:  $p = 0,086$ ) e do controlo (FVIII:  $p = 0,237$ ; FvW:  $p = 0,797$ ), a variável sexo não é estatisticamente significativa.

No que diz respeito à variável idade, após comparação dos valores de FVIII e FvW entre as diferentes faixas etárias em ambos os grupos, doentes (FVIII:  $p = 0,301$ ; FvW:  $p = 0,301$ ) e controlo (FVIII:  $p = 0,685$ ; FvW:  $p = 0,195$ ), observa-se que esta também não é estatisticamente significativa. Como podemos observar nas Figuras 25 e 26, no grupo dos doentes, existe um pico na faixa etária dos 36 – 40 anos, e na faixa etária 55–60 anos os valores estão um pouco mais elevados em comparação com as faixas etárias anteriores; no grupo do controlo existe uniformidade nos valores.



**Figura 25:** Distribuição da concentração média do FVIII e do FvW (U/mL), em função da idade no grupo dos doentes.

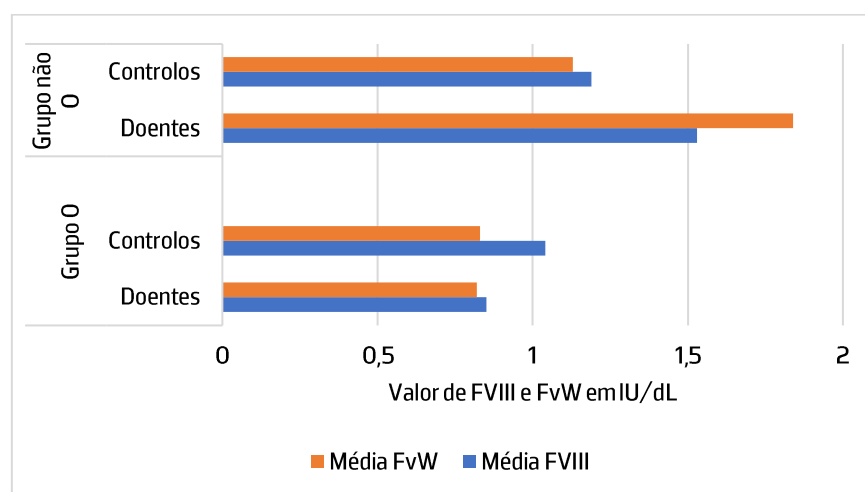


**Figura 26:** Distribuição da concentração média do FVIII e do FvW (U/mL), em função da idade no grupo do controlo.

#### 4.2. Grupos sanguíneos e valores de FVIII e FvW

Ao analisar os valores de FVIII e FvW entre os grupos sanguíneos O e não-O, não fazendo a distinção entre doentes e controlo, observaram-se diferenças estatisticamente significativas. No grupo O, o valor médio de FVIII foi de 0,95 U/mL (0,76 - 1,50 U/mL) e no grupo não-O foi de 1,36 U/mL (1,00 - 1,76 U/mL) ( $p=0,017$ ). Relativamente à média do FvW, no grupo O foi de 0,83 U/mL (0,62 - 1,03 U/mL) e no grupo não-O foi de 1,49 U/mL (0,81 - 2,90 U/mL) [ $p<0,001$ ].

Quando analisamos os resultados obtidos neste estudo distribuído por grupo, doentes e controlo, observamos que, em ambos, os valores de FVIII e FvW, são mais elevados no grupo sanguíneo não-O, comparado com o grupo sanguíneo O, conforme na Figura 27.



**Figura 27:** Valores médios do FvW e FVIII (U/mL) em função do grupo sanguíneo, nos dois grupos.

## 5. Discussão

Neste estudo foi avaliado o papel do FVIII e do FvW no evento trombótico venoso sem fatores de risco previamente identificados.

Ao analisar os doentes que foram admitidos inicialmente no estudo, foram excluídos 14 doentes por apresentarem trombofilias hereditárias, nomeadamente, défice de proteínas S, C e variantes patogénicas do fator V de Leiden e da protrombina G20210A. Estes resultados são corroborados pela literatura (38), que identifica as 5 trombofilias genéticas (défice de proteína S, C e antitrombina, variante do fator V de Leiden e da protrombina G20210A) com uma frequência de cerca de 30% em doentes que tiveram um evento trombótico venoso, sendo a variante do fator V de Leiden a mais prevalente na população com TEV: 20%. Foram também excluídos 6 doentes por trombose provocada ou por apresentarem outras condições pró-trombóticas, nomeadamente, por apresentarem síndrome mieloproliferativa, COVID-19, síndrome antifosfolipídica, pancreatite aguda a condicionar trombose portal e doença renal crónica com trombose de fístula arteriovenosa. Segundo a literatura (39–42), doentes que apresentam as patologias anteriores têm uma maior probabilidade de sofrerem um evento trombótico venoso.

De acordo com os valores de hemoglobina obtidos, podemos excluir a suspeita diagnóstica de policitémia vera (PV), dado os valores de hemoglobina encontrarem-se dentro dos parâmetros de referência. Segundo diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS), no sexo feminino os valores de hemoglobina superiores a 16 g/dL e no sexo masculino superiores a 16,5 g/dL justificam estudo para exclusão de PV (43,44).

Neste estudo optou-se por seguir as práticas recomendadas pela International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTHN) e pela British Society for Haematology (BSH) através das suas *guidelines* de diagnóstico da TEV. Todos os doentes admitidos a estudo pró-trombótico (incluindo doseamentos de FVIII e FvW) suspenderam a toma de anticoagulantes orais cerca de 3 semanas antes da data da colheita (45,46), apesar de existirem estudos que referem que os anticoagulantes orais não interferem nos níveis de FVIII e FvW (47).

Ao avaliar o contributo do FVIII e do FvW no TEV, constatou-se que ao comparar os valores médios plasmáticos entre os dois grupos, doentes e controlo, são estatisticamente significativos, ou seja, podemos apoiar a dedução de que valores elevados de FVIII e FvW podem contribuir para o risco de ocorrência de eventos trombóticos venosos em doentes que não têm outros fatores de risco conhecidos. Esta observação está de acordo com diversos

estudos (30–32,47,48), sendo o primeiro estudo que reportou uma associação entre o FVIII, o FvW e o risco de ocorrência de eventos trombóticos venosos o *The Leiden Thrombophilia Study* (30).

Atualmente vários estudos (28,47,49) têm demonstrado uma associação do FvW independente do FVIII ao risco de ocorrência de eventos trombóticos venosos. O FvW é um biomarcador inespecífico, e valores altos são sinal de ativação plaquetária, nomeadamente ativação do endotélio celular. Uma das funções do FvW é a sua interação com o FVIII, protegendo-o contra a degradação proteolítica e sua *clearance* prematura. Recentemente tem sido também reportado o papel do FvW em várias outras entidades clínicas, na presença ou ausência de inflamação (49).

A ação do FvW no processo da hemostase está bem descrita, no entanto, o seu papel na ocorrência de um evento trombótico venoso, ainda não está bem caracterizado (causa vs. consequência). Para tentar compreender a sua relevância na etiologia do TEV foram realizados estudos em modelos animais (ratinhos). Brill et al., reportaram que ratinhos deficientes em FvW estavam protegidos contra a ocorrência de TEV, independentemente do FVIII. Através da realização destes estudos em modelos animais, Choi et al., propuseram que o FvW é crucial na formação do trombo, mas que já não terá um papel tão relevante na propagação do coágulo (34). Devido a estas descobertas o FvW poderá ser um alvo terapêutico promissor no TEV, no entanto, são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos biológicos etiopatogénicos e fisiológicos (34,49).

Neste estudo só verificamos discrepância entre o aumento dos níveis de FvW em relação ao FVIII na faixa etária 56–60 anos, sendo a variação concordante nas restantes faixas etárias. Através destes dados não é possível observar uma associação independente entre o FvW e a ocorrência de TEV.

Está descrito noutros estudos (29,31) que os valores de FVIII e FvW aumentam com a idade o que se traduz num maior risco de ocorrência de um evento trombótico venoso com o envelhecimento. Este aumento da incidência pode ser explicado pelo aumento das comorbilidades associadas, imobilidade, diminuição do tónus muscular, diminuição da resistência das paredes das veias e deterioração das válvulas venosas, originando a sua dilatação e a consequente diminuição do fluxo sanguíneo e estase venosa. No presente estudo, todos os doentes e dadores admitidos tinham idade inferior a 60 anos. Segundo a OMS, a partir dos 60 anos existem alterações biológicas significativas – senescência, que

levam à maior probabilidade de desenvolvimento e manifestação de doenças cerebrovasculares, tais como acidente vascular cerebral (AVC), doença coronária, doenças respiratórias crônicas, neoplasias e demência (50). No entanto, ao analisar os dados de ambos os grupos – doentes e controlo – não observamos um aumento significativo dos valores de FVIII e FvW com a idade. Este achado deve-se muito provavelmente ao reduzido tamanho da amostra (n=12), e ao fato desta avaliação ter sido efetuada num único momento, e não ter sido prospetiva.

Estudos prévios reportaram maior ocorrência de TEV em mulheres em idade fértil, entre os 20 e os 40 anos, quando comparadas com indivíduos do sexo masculino (2,29). Os dados obtidos neste estudo estão de acordo com a literatura (37,51,52), pois a percentagem de doentes referenciados do sexo feminino foi de 83,33%, e 16,67% do sexo masculino.

Na literatura então descritos casos em que o FVIII desempenha diferentes papéis na etiologia do TVP e do TEP, pois os elevados níveis de FVIII são mais prevalentes em doentes com TVP do que com TEP (48,49). Ao analisar os resultados obtidos neste estudo pelos subtipos de TEV, observamos que não são estatisticamente significativas, ou seja, neste estudo não obtivemos dados concordantes com a literatura. Esta não concordância pode dever-se ao reduzido tamanho da amostra (n=12) do presente estudo.

Neste estudo foi igualmente avaliada a possibilidade de relação entre mês de estação do ano e a ocorrência de TEV. A amostra é muito reduzida para serem tiradas conclusões, porém, observou-se que a estação do ano em que ocorreram mais eventos trombóticos foi a primavera, sendo junho o mês em que foram registados mais eventos (50%). Apesar de não terem sido encontrados estudos direcionados para a associação entre estação do ano e a ocorrência de trombozes venosas, sabemos que viagens longas e a desidratação provocada pelo calor são fatores de risco de ocorrência de TEV, e os meses junho e julho são caracterizados por temperaturas elevadas e maior imobilidade pelas viagens de férias, aumentando assim a probabilidade de ocorrência de eventos.

Em 1960 foram publicados os primeiros estudos relativos à influência dos grupos sanguíneos na hemostase, sobretudo os valores de FvW e FVIII. Desde então foram realizados inúmeros estudos de forma a analisar se diferentes grupos sanguíneos estão associados a diferentes riscos de desenvolver TEV (53). Estima-se que cerca de 70% da variação dos níveis plasmáticos de FvW/FVIII seja determinada geneticamente; 30% dessa variação está ligada

ao grupo sanguíneo do indivíduo. Indivíduos do grupo não-O têm níveis de FvW 25% mais elevados do que indivíduos do grupo O (53).

Um estudo realizado na Bélgica, por Wautrecht e colaboradores (54), concluiu que a frequência de doentes com TVP do grupo não-O era significativamente maior do que nos controlos. A observação de maior ocorrência de eventos tromboembólicos em indivíduos de grupo não-O, sobretudo do grupo A, está patente noutras patologias, como a COVID ou a drepanocitose (55,56). Noutro estudo, Tirado e colaboradores (57), concluíram também que a frequência do grupo O era mais elevada nos controlos do que nos doentes com TEV, enquanto, que a frequência do grupo A era mais elevada em doentes com TEV do que nos controlos. Feliz J.M. e colaboradores (30), concluíram que indivíduos do grupo sanguíneo não-O têm um risco de desenvolver TEV 2 vezes superior em relação aos indivíduos do grupo O. Num outro estudo efetuado em Itália por Spiezia L et al., os autores observaram que indivíduos do grupo sanguíneo não-O apresentavam um risco 2,2 vezes superior de desenvolver TVP, comparando com indivíduos do grupo O (53).

Neste estudo não foi possível determinar o grupo sanguíneo em todos os doentes, contudo, no grupo de doentes com TEV cujo grupo sanguíneo era conhecido, a percentagem de grupo sanguíneo não-O foi de 83,3%, e a de grupo O, 16,7%.

No grupo do controlo a percentagem do grupo sanguíneo não-O foi de 33,3%, comparado com o grupo O que tem 66,7%. Os grupos sanguíneos obtidos no grupo - controlo são aleatórios, pois a dádiva de sangue em Portugal é voluntária, anónima e não remunerada. As pessoas efetuam a sua dádiva por motivos solidários, sem qualquer referência ao seu grupo sanguíneo. Durante o período do estudo a maioria dos dadores que recorreram ao Banco de Sangue foram do grupo O, sendo o grupo mais representado na amostra controlo. Para além desta situação, alguns dadores do grupo não - O foram excluídos, por não cumprirem os critérios de inclusão.

Relativamente aos valores médios de FvW/FVIII, observou-se que tanto no grupo de doentes, como de controlos, os níveis são mais elevados no grupo sanguíneo não-O, relativamente ao grupo sanguíneo O. Estes resultados são corroborados por vários estudos (28,30,53)

Este estudo tem algumas limitações relevantes, a saber: 1) amostragem do estudo é pequena, não permitindo ilações robustas sobre o tema abordado; 2) a colheita de amostras de sangue venoso não foi realizada no mesmo tempo para todos os indivíduos, nem o *timing*

da colheita do estudo após a trombose foi igual em todos – foi definido como critério limitante a colheita fora do evento agudo (tendo havido doentes estudados em diversos intervalos temporais após a fase aguda), fator que pode ter introduzido variabilidade nos valores observados de FVIII e FvW, apesar de diferentes autores reportarem que os níveis de FVIII e FvW mantêm-se estáveis ao longo dos anos após um evento trombótico venoso (47); 3) o FVIII e FvW são proteínas de fase aguda e pelo facto de não terem sido colhidos marcadores inflamatórios simultaneamente, não podemos excluir outra causa inflamatória, para além do evento trombótico.

Nesta perspetiva, e dado que em Portugal não existem muitos estudos sobre este tema, seria importante futuramente realizar um outro estudo, com um período temporal mais alargado, para aumentar o tamanho da amostra, e fazer também o *follow-up* dos doentes, de forma avaliar a variabilidade dos valores de FVIII e FvW com o aumento da idade. Nesse estudo incluir-se-iam também a avaliação dos marcadores inflamatórios, nomeadamente D-Dímeros e Proteína C Reativa, para excluir outra causa inflamatória. Seria também relevante analisar associação dos grupos sanguíneos com o risco de TEV.

## **6. Conclusão**

Neste estudo, foi avaliado o papel do FVIII e FvW no evento trombótico venoso. Através dos resultados obtidos observámos que existe uma forte associação entre níveis elevados de FVIII e FvW e o TEV, sugerindo que poderão ser fatores de risco de ocorrência de um evento trombótico venoso, tal como preconizado noutros estudos.

Assim, parece-nos importante a inclusão dos doseamentos de FVIII e FvW no estudo pró-trombótico do TEV de etiologia indeterminada.

Por outro lado, para melhor sustentar alguns resultados obtidos será importante a realização de estudos do tipo caso-controlo com um tamanho amostral que permita estimar a associação entre exposição e o risco de desenvolver um evento trombótico (estimativa do risco relativo – Odds Ratio), a qual permitirá avaliar o papel do FVIII e FvW no TEV.

## Referências Bibliográficas

1. Anderson FA, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. Vol. 107, *Circulation*. 2003.
2. Heit JA. Epidemiology of venous thromboembolism. Vol. 12, *Nature Reviews Cardiology*. Nature Publishing Group; 2015. p. 464–74.
3. Gouveia M, Pinheiro L, Costa J, Borges M. Embolia pulmonar em Portugal: Epidemiologia e mortalidade intra-hospitalar. *Acta Med Port*. 1 de Julho de 2016;29(7–8):432–40.
4. Biousse V. The Coagulation System. *J Neuro-Ophthalmol*. 2003;23:50–62.
5. Smith SA. The cell-based model of coagulation: State-Of-The-Art Review. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. Fevereiro de 2009;19(1):3–10.
6. Franco RF. Fisiologia da Coagulação, Anticoagulação e Fibrinólise. *Medicina*, Ribeirão Preto. 2001;229–37.
7. Lippi G, Favaloro EJ. Laboratory hemostasis: Milestones in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Vol. 51, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2013. p. 91–7.
8. VanPutte C, Regan J, Russo A. Anatomia e Fisiologia de Seeley – 10ª Edição [Internet]. Disponível em: [www.mercadolivre.com.br](http://www.mercadolivre.com.br)
9. Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. Vol. 58, *Indian Journal of Anaesthesia*. Indian Society of Anaesthetists; 2014. p. 515–23.
10. Michelson A, Cattaneo M, Frelinger A, Newman P. Platelets. 4th Edition. Elsevier, editor. 2019.
11. Gremmel T, Frelinger AL, Michelson AD. Platelet physiology. Vol. 42, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. Thieme Medical Publishers, Inc.; 2016. p. 191–204.
12. Zapata JC, Cox D, Salvato MS. The Role of Platelets in the Pathogenesis of Viral Hemorrhagic Fevers. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(6).
13. Neubauer K, Zieger B. Endothelial cells and coagulation. Vol. 387, *Cell and Tissue Research*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2022. p. 391–8.
14. Mann KG, Butenas S, Brummel K. The dynamics of thrombin formation. Vol. 23, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2003. p. 17–25.
15. do Amaral Baruzzi AC, Stefanini E, Manzo G. Fibrinolíticos: Indicações e tratamento das complicações hemorrágicas. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*. 15 de Dezembro de 2018;28(4):421–7.

16. Ferreira C, Sousa M, Dusse L, Carvalho M. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações A cell-based model of coagulation and its implications. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2010;416–21.
17. Gonçalves de Souza AP, Deodato Cavalcante F, De Souza Canto Silva E, Fernandes Santana S, Brandão Peixoto MO, Braga Peixoto F. Manejo odontológico de pacientes em terapia antitrombótica. *Revista Bahiana de Odontologia*. 20 de Dezembro de 2016;7(4).
18. Hoffman M. A cell-based model of coagulation and the role of factor VIIa. *Elsevier Science Blood Reviews*. 2003;17:S1–5.
19. Khan F, Tritschler T, Kahn SR, Rodger MA. Venous thromboembolism. Vol. 398, *The Lancet*. Elsevier B.V.; 2021. p. 64–77.
20. Blann AD, Lip GYH. Clinical review Venous thromboembolism. *BMJ* [Internet]. 2006;332:215–9. Disponível em: [www.nice.org.uk](http://www.nice.org.uk)
21. Alves ECP, Almeida CC, Pratas Balhau A. Tromboembolismo Venoso Diagnóstico e Tratamento. *Sociedade Portuguesa de Cirurgia, Capítulo de Cirurgia Vascul*. 2015;
22. Koupenova M, Kehrel BE, Corkrey HA, Freedman JE. Thrombosis and platelets: An update. Vol. 38, *European Heart Journal*. Oxford University Press; 2017. p. 785–91.
23. Middeldorp S. Is Thrombophilia Testing Useful? *American Society of Hematology*. 2011;150–5.
24. Anderson FA, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. Vol. 107, *Circulation*. 2003.
25. Næss IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: A population-based study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. Abril de 2007;5(4):692–9.
26. Kreuz W, Stoll M, Junker R, Heinecke A, Schobess R, Kurnik K, et al. Familial elevated factor VIII in children with symptomatic venous thrombosis and post-thrombotic syndrome: Results of a multicenter study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Agosto de 2006;26(8):1901–6.
27. Cushman M. Epidemiology and Risk Factors for Venous Thrombosis. *Semin Hematol*. Abril de 2007;44(2):62–9.
28. Rajpal S, Ahluwalia J, Kumar N, Malhotra P, Uppal V. Elevated Von Willebrand Factor Antigen Levels are an Independent Risk Factor for Venous Thromboembolism: First

- Report from North India. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 1 de Julho de 2019;35(3):489–95.
29. Rosendaal FR. Causes of venous thrombosis. Vol. 14, *Thrombosis Journal*. BioMed Central Ltd.; 2016.
  30. Van Der Meer FJM, Koster T, Vandenbroucke JP, Briet E, Rosendaal FR. Thrombosis and Haemostasis The Leiden Thrombophilia Study (LETS). Vol. 78, Stuttgart). 1997.
  31. Jenkins PV, Rawley O, Smith OP, O'Donnell JS. Elevated factor VIII levels and risk of venous thrombosis. Vol. 157, *British Journal of Haematology*. 2012. p. 653–63.
  32. O'donnell J, Mumford AD, Manning RA, Laffan M. Elevation of FVIII : C in Venous Thromboembolism Is Persistent and Independent of the Acute Phase Response. Vol. 83, *Thromb Haemost*. 2000.
  33. Terashima M, Kataoka H, Horikawa H, Nakagawa H, Taoka T, Matsumoto M, et al. Cerebral Sinus and Venous Thrombosis Associated with von Willebrand Factor, Independently of Factor VIII. *Clinical Medicine: Case Reports*. 2008.
  34. O'Donnell JS, Byrne C, Preston RJS. Von Willebrand factor–inflammation crosstalk in deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost*. 1 de Março de 2023;21(3):453–5.
  35. Michels A, Lillicrap D, Yacob M. Role of von Willebrand factor in venous thromboembolic disease. Vol. 3, *JVS–Vascular Science*. Elsevier Inc.; 2022. p. 17–29.
  36. Ward SE, O'sullivan JM, O'donnell JS. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis. *The American Society of Hematology*. 2020;136.
  37. Gajek A, Natorska J, Wypasek E, Stanisiz A, Malinowski KP, Undas A. Determinants of elevated factor VIII in patients screened for thrombophilia. Vol. 188, *Thrombosis Research*. Elsevier Ltd; 2020. p. 28–30.
  38. Colman RW. Are hemostasis and thrombosis two sides of the same coin? Vol. 203, *Journal of Experimental Medicine*. 2006. p. 493–5.
  39. Heit JA. *Thrombophilia: Common Questions on Laboratory Assessment and Management*. American Society of Hematology. 2007;
  40. Gonzelez HJ, Sahay SJ, Samadi B, Davidson BR, Rahman SH. Splanchnic vein thrombosis in severe acute pancreatitis: A 2-year, single-institution experience. *HPB*. 2011;13(12):860–4.

41. Kollias A, Kyriakoulis KG, Lagou S, Kontopantelis E, Stergiou GS, Syrigos K. Venous thromboembolism in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Vascular Medicine (United Kingdom)*. 1 de Agosto de 2021;26(4):415–25.
42. Lu HY, Liao KM. Increased risk of deep vein thrombosis in end-stage renal disease patients. *BMC Nephrol*. 16 de Agosto de 2018;19(1).
43. Domingues K, Marta L, Peres M, Monteiro I, Leal M. Multiple thrombi in the inferior vena cava and right atrium – Recurrent thromboembolism due to polycythemia vera. Vol. 107, *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*; 2016. p. 187–8.
44. Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: A decade of discoveries and treatment advances. *Am J Hematol*. 1 de Janeiro de 2016;91(1):50–8.
45. Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1 de Novembro de 2020;18(11):2828–39.
46. Arachchillage DJ, Mackillop L, Chandratheva A, Motawani J, MacCallum P, Laffan M. Thrombophilia testing: A British Society for Haematology guideline. *Br J Haematol*. 1 de Agosto de 2022;198(3):443–58.
47. Pagliari MT, Boscarino M, Cairo A, Mancini I, Martinelli I, Bucciarelli P, et al. ADAMTS13 activity, high VWF and FVIII levels in the pathogenesis of deep vein thrombosis. *Thromb Res*. 1 de Janeiro de 2021;197:132–7.
48. Rietveld IM, Lijfering WM, le Cessie S, Bos MHA, Rosendaal FR, Reitsma PH, et al. High levels of coagulation factors and venous thrombosis risk: strongest association for factor VIII and von Willebrand factor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1 de Janeiro de 2019;17(1):99–109.
49. Edvardsen MS, Hindberg K, Hansen ES, Morelli VM, Ueland T, Aukrust P, et al. Plasma levels of von Willebrand factor and future risk of incident venous thromboembolism. *Blood Adv*. 12 de Janeiro de 2021;5(1):224–32.
50. OMS. Relatório Mundial de Envelhecimento e Saúde [Internet]. 2005. Disponível em: [www.who.int](http://www.who.int)

51. Aul P, Yrle AK, Arbara B, Chneider S, Nsgar A, Eltermann W, et al. High Plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent Venous thromboembolism. *The New Journal of Medicine*. Agosto de 2000;343:457.
52. Timp JF, Lijfering WM, Flinterman LE, van Hylckama Vlieg A, le Cessie S, Rosendaal FR, et al. Predictive value of factor VIII levels for recurrent venous thrombosis: Results from the MEGA follow-up study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 1 de Outubro de 2015;13(10):1823–32.
53. Franchini M, Makris M. Non-O blood group: An important genetic risk factor for venous thromboembolism. Vol. 11, *Blood Transfusion*. 2013. p. 164–5.
54. wautrecht JC, Galle C, Motte S, et al. The Role of ABO Blood Groups in the Incidence of Deep Vein Thrombosis. *Thromb Haemost*. 1998;688–9.
55. Rao S, Warrior S, Luo S, Gezer S, Venugopal P, Jain S. Impact of blood type on thrombosis and disease severity in adult COVID-19 patients. Vol. 206, *Thrombosis Research*. Elsevier Ltd; 2021. p. 145–7.
56. Ahmed SG, Kagu MB, Ibrahim UA, Bukar AA. Impact of sickle cell trait on the thrombotic risk associated with non-O blood groups in northern Nigeria. *Blood Transfusion*. 1 de Outubro de 2015;13(4):639–43.
57. Tirado I, Mateo J, Soria JM, Oliver A, Martínez-Sánchez E, Vallvé C, et al. The ABO blood group genotype and factor VIII levels as independent risk factors for venous thromboembolism. *Thromb Haemost*. Março de 2005;93(3):468–74.
58. Siemens Healthineers. Plasma deficiente em Factor de Coagulação VIII [Internet]. 2021. Disponível em: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>
59. Coagulation assays. Pruebas de laboratorio, Coagulation assays [Internet]. 2020 [citado 17 de Setembro de 2023]. Disponível em: [https://www.coagulationassays.com/es\\_es/home/laboratory-assays/Clot-based-activity-assays.html](https://www.coagulationassays.com/es_es/home/laboratory-assays/Clot-based-activity-assays.html)
60. Siemens Healthineers. vWF Ag [Internet]. 2021 [citado 17 de Setembro de 2023]. Disponível em: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

## Anexo 1 – Documentos da autorização da Comissão de ética CHUSJ



### DELIBERAÇÃO DO CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO

Após apreciação e pareceres favoráveis da Comissão de Ética e do Centro de Epidemiologia Hospitalar, considerando que se encontram reunidos os requisitos e demais trâmites previstos no circuito para submissão de projetos de investigação no Centro Hospitalar Universitário de S. João e em conformidade com as disposições legais em vigor, o Conselho de Administração – ao abrigo das competências previstas no Artigo 71.º dos Estatutos dos hospitais, centros hospitalares, institutos portugueses de oncologia e unidades locais de saúde, aprovados pelo Decreto-Lei n.º 52/2022, de 4 de agosto – delibera:

1. Aprovar a realização do projeto de investigação:
  - “Papel do FVIII e FwW no Evento Trombótico”.
  - Serviço(s) onde decorrerá o projeto de investigação: Imunohemoterapia.
  - Investigador(a) principal: Cláudia Raquel Oliveira Ferreira.
2. Remeta-se à Comissão de Ética para os procedimentos adequados e demais trâmites convenientes.

CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO DO CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO DE S. JOÃO, S.P.E. • REUNIÃO DE 19 DE JANEIRO DE 2023			
Presidente do Conselho de Administração			
			
Prof.ª Doutora Maria João Baptista			
Director Clínico	Enfermeiro Director	Vogal Executiva	Vogal Executiva
			
Prof.ª Doutor Roberto Roscos	Enfermeiro Paulo Ernesto Mota	Dra. Sofia Leal	Dra. Fernanda Oliveira

} Comissão de Ética  
} Centro de Epidemiologia Hospitalar  
} Direção Clínica

□ CES 348/2022

**Projeto de investigação:** "Papel do FVIII e FvW no Evento Trombótico"

**Promotor:** Não aplicável.

**Pertinência do estudo**

Trata-se de um estudo realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas e Saúde Pública da Escola Superior de Saúde do IPP, sob orientação da Dra. Lídia Costa, observacional, sem intervenção, que tem como objetivos: estudar o papel do FVIII e FvW em pessoas que sofreram um evento trombótico há mais de 3 meses.

O estudo é pertinente e adequado, porquanto, como afirma a Investigadora: "A recente literatura tem sugerido que a presença de altos valores de FVIII e FvW no plasma de pacientes que tiveram evento trombótico venoso representa um grande fator de risco. O objetivo do projeto é verificar se os fatores de coagulação: FVIII e FvW estão associados ao risco trombótico, em pacientes que tiveram evento trombótico venoso há mais de 3 meses sem qualquer fator de risco conhecido. Caso se verifique a associação, pode concluir-se que o FVIII e o FvW são uma boa ferramenta para serem incluídos nos estudos pró trombóticos."

A população em estudo incluirá pacientes que sofreram um evento trombótico venoso há mais de 3 meses (da consulta de Trombofilia e Dádiva de Sangue do CHUSJ), sem fator de risco conhecido adquirido ou hereditário; o grupo-controlo incluirá dadores de sangue, com idade compreendida entre os 18 e os 50 anos. "O número de casos usados na amostragem é apenas o necessário para a validação do estudo".

Os dados do estudo serão recolhidos de forma anonimizada a partir dos processos clínicos de cada doente. Todos os procedimentos serão os que habitualmente se realizam nos doentes incluídos neste estudo e não haverá deslocações adicionais ou específicas relacionadas com os objetivos do estudo.

O estudo é pertinente, importante e está muito bem fundamentado.

O estudo durará até 31/8/2023 e não tem encargos financeiros para o CHUSJ.

O protocolo de estudo, os critérios de inclusão e de exclusão estão suficientemente detalhados e não levantam quaisquer questões do foro ético.

A Investigadora Principal, Cláudia Raquel Oliveira Ferreira, Técnica Superior de Diagnóstico e Terapêutica no Serviço de Imunohemoterapia do CHUSJ, dispõe das competências técnica e científica para a realização do estudo.

O estudo será realizado no Serviço de Imunohemoterapia do Centro Hospitalar de S. João, EPE e dispõe da autorização para a sua realização pela sua Diretora, Dra. Maria do Carmo Koch. O Serviço proponente dispõe das condições necessárias para a realização do estudo.

**Benefício/Risco**

Tratando-se de um estudo que não altera a prática clínica habitual, não requer exames complementares adicionais, nem afectará o tratamento, não implica por isso quaisquer riscos ou incómodos ao doente.

Não haverá nenhuma deslocação adicional do doente para realizar procedimentos específicos do estudo.

#### **Respeito pela liberdade e autonomia do sujeito do ensaio**

A folha de informação submetida à CES contém toda a informação relevante relacionada com o tipo de estudo proposto.

A gratuidade do sujeito do ensaio em participar no estudo é igualmente garantida.

Estão consignados os direitos e referenciadas as (não) consequências para o sujeito do estudo em não participar e, uma vez dado o seu consentimento, ter a possibilidade de exercer o direito de não continuar no estudo sem que daí resulte qualquer modificação dos cuidados médicos a prestar.

#### **Confidencialidade dos dados**

A confidencialidade e privacidade dos dados são garantidas.

#### **Indemnização por danos**

Não aplicável.

#### **Continuação do tratamento**

Não aplicável.

#### **Propriedade dos dados**

Não aplicável.

#### **Conclusão**

Em face da análise do protocolo de "Papel do FVIII e FvW no Evento Trombótico", proponho a sua aprovação pela CE do CHUSJ/FMUP.

Porto, 16 de dezembro de 2022

O Relator

Prof. Manuel Vaz Silva

<b>Título do Projeto</b>	Papel do FVIII e do FvW no Evento Trombótico		
Responsável pelo tratamento	Cláudia Raquel Oliveira Ferreira		
Instituição	Centro Hospitalar Universitário São João (CHUSJ) Escola Superior De Saúde do Politécnico do Porto (ESS-PP)		
Investigador	<input checked="" type="checkbox"/> Interno	<input type="checkbox"/> Externo	
Contacto telefónico	913767720	Endereço Electrónico	<a href="mailto:w017885@chsi.min-saude.pt">w017885@chsi.min-saude.pt</a>
Profissional de Ligação	Não aplicável		
Amostra	30 Pacientes e 30 Dadores		
Análise de Risco	<input type="checkbox"/> Tolerável	<input type="checkbox"/> Baixo	<input checked="" type="checkbox"/> Elevado <input type="checkbox"/> Muito Elevado

Parecer do EPD:

Data: 09/01/2023

**Finalidade:** verificar se os fatores de coagulação: FVIII e FvW estão associados ao risco trombótico, em pacientes que tiveram evento trombótico venoso há mais de 3 meses sem qualquer fator de risco conhecido. Caso se verifique a associação, pode concluir-se que o FVIII e o FvW são uma boa ferramenta para serem incluídos nos estudos pró trombóticos.

**Licitude:** fundamento previsto no artigo 6(1)(a) e 9(2)(a) do RGPD (dadores)

**Licitude:** fundamento previsto no artigo 9(2)(j), com as garantias do 89(1) do RGPD, e artigo 31(1) da LERGD (pacientes)

**Categorias de dados pessoais:** variáveis identificadas com detalhe na AIPD, datada de 04/01/2023, ponto 13, tendo presente o princípio da minimização dos dados.

**Conservação:** os dados serão alvo de pseudonimização, armazenados em local seguro, em área restrita com acesso limitado ao Investigador Principal, com acesso a ficheiros protegido por palavra-passe, efetuando-se a conservação até a conclusão da investigação, que se estima ser até 30 de setembro de 2023. Os dados recolhidos serão destruídos após a finalização do estudo.

**Comunicação de Dados:** não há partilha de dados pessoais.

Face ao exposto, e observadas as recomendações, entende-se que a presente AIPD apresenta os elementos necessários para assegurar que o tratamento é realizado em conformidade com o RGPD.

#### Recomendações:

1. Sempre que o consentimento do titular for o fundamento de legitimidade adequado para o tratamento de dados, dever-se-á assegurar que o mesmo é válido nas condições legalmente exigíveis: *uma manifestação de vontade livre, específica, informada e inequívoca*. Neste contexto, o consentimento deverá ser objeto de reflexão por parte do participante fora do ambiente hospitalar, devendo para tal, existir a possibilidade de o mesmo remeter o consentimento por correio em envelope R5F.
2. Reforçar as medidas de segurança previstas para a conservação dos documentos em formato de papel que impeçam o acesso à informação a pessoas não autorizadas, bem como o seu manuseamento indevido;
3. Garantir medidas de segurança adicionais no transporte dos dados com recurso a dispositivos electrónicos de armazenamento (Laptop, Disco Externo), nomeadamente através de medidas de cifragem e autenticação;
4. Garantir as medidas técnicas e organizativas para assegurar que o acesso ao sistema de informação é efetuado apenas por utilizadores devidamente autorizados, em razão da necessidade de conhecer e da segregação de funções (privilégios de acesso por função).
5. Em caso de necessidade de extensão de prazo e/ou de qualquer alteração dos pressupostos atinentes ao presente parecer o Investigador Principal deverá solicitar a reapreciação do projeto de investigação junto do EPD.

Revisão AIPD:

Data da próxima revisão: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Não carece de revisão.



Anexos:

1. Processo CES n.º 348/2022
2. Parecer CES (16/12/2022)
3. AIPD (04/01/2023)
4. Consentimento Informado e Informação ao Participante
5. Protocolo de Investigação

*Encarregado de Proteção de Dados*  
Assinado por: **PAULO ALEXANDRE MOTA DA SILVA**  
Data: 2023.01.09 14:52:06+00'00'  
Localização: CHUSJ



## Anexo 2 – Consentimento informado ao participante no estudo

<b>CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE</b>	
 <b>SÃO JOÃO</b>	<b>PARA INVESTIGAÇÃO CLÍNICA</b> <small>Considerando a "Declaração de Helsínquia" da Associação Médica Mundial (Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996; Edimburgo 2000; Seul 2004; Portaleza 2013)</small>
	
<b>Designação do Estudo</b> <i>(datilografado em português)</i> Papel do FVIII e do FvW no Evento Trombótico	
<i>Confirmando que expliquei ao participante/representante legal, de forma adequada e compreensível, a investigação referida, os benefícios, os riscos e possíveis complicações associadas à sua realização.</i>	
Informação escrita em anexo: <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim (Nº de páginas <u>2</u> )	
<b>O investigador responsável</b> Nome: <u>Cláudia Raquel Oliveira Ferreira</u> Data: <u>02</u> / <u>12</u> / <u>2022</u> <small>datilografado assinatura</small>	
<b>Identificação do participante</b> Nome: _____ BI/ CC nº: _____ <small>datilografado</small>	
<b>Participante/ Representante legal</b> · Compreendi a explicação que me foi facultada acerca do estudo que se tenciona realizar: os objetivos, os métodos, os benefícios previstos, os riscos potenciais e o eventual desconforto. · Solicitei todas as informações de que necessitei, sabendo que o esclarecimento é fundamental para uma boa decisão. · Fui informado da possibilidade de livremente recusar ou abandonar a todo o tempo a participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo na assistência que me é prestada. · Declaro não ter sido incluído em nenhum outro projeto de investigação nos últimos três meses. · Concordo com a participação neste estudo, de acordo com os esclarecimentos que me foram prestados, como consta neste documento, do qual me foi entregue uma cópia.	
Data: <u>   </u> / <u>   </u> / <u>   </u> _____ <small>assinatura</small>	
Nome (Pais/Representante legal, se aplicável): _____ BI/ CC nº: _____ Grau de parentesco: _____ <small>datilografado</small>	
Data: <u>   </u> / <u>   </u> / <u>   </u> _____ <small>assinatura</small>	

IN-FCES-IM04-1

# Projeto: Papel do FVIII e FvW no Evento Trombótico Venoso

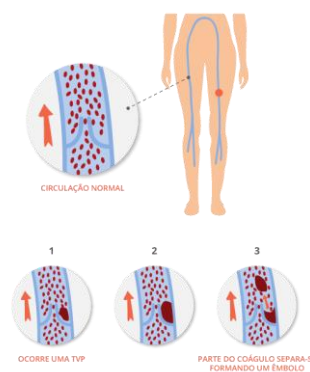
*Investigadora: Cláudia Raquel Oliveira Ferreira*

*Técnica Superior de Diagnóstico e Terapêutica – Análises Clínicas e de Saúde Pública,*

*Serviço de Imunohemoterapia do Centro Hospitalar Universitário de São João*

*Contato:U017885@chsj.min-saude.pt*

O Tromboembolismo Venoso (TEV) é uma doença causada pela formação de coágulos e posterior trombose nas veias (um tipo de vasos sanguíneos). Podem ocorrer Tromboses Venosas Profundas (TVP) e/ou Embolias Pulmonares (TEP). Estima-se que a incidência anual de casos de TEV na população Europeia seja cerca de 104 a 183 casos por 100 000 habitantes, sendo considerada a terceira doença cardiovascular mais frequente.



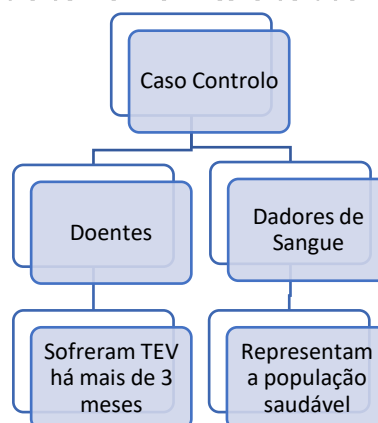
Os fatores de risco associados ao TEV são classificados como genéticos e adquiridos, e representam cerca de 50 – 60% dos casos reportados. No entanto, existe uma percentagem de casos de TEV em que a sua causa é desconhecida, não se observando a presença destes fatores de risco.

A literatura mais recente tem sugerido que a presença de valores elevados de Fator VIII da coagulação (FVIII) e Fator de von Willebrand (FvW) no plasma de doentes que sofreram um evento trombótico venoso pode representar um fator de risco.

O FVIII e o FvW são fatores de coagulação que desempenham um papel importante na formação do coágulo sanguíneo. Um desequilíbrio neste processo pode levar à formação excessiva de coágulos e culminar em TEV.

Como conclusão do Mestrado em Análises Clínicas e de Saúde Pública, é proposto efetuar um estudo caso-controlo, que vai estudar a associação entre os FVIII e FvW e os doentes que sofreram um TEV.

Para a realização desse estudo são necessários 2 grupos populacionais distintos: Doentes que sofreram o evento trombótico e os Dadores de Sangue (representam a população saudável).



#### Participação no estudo:

- Dadores de sangue que representam a população saudável;
- Participação é confidencial e voluntária, podendo a qualquer momento desistir da participação no estudo (envio do pedido de retirada do consentimento para o contato da investigadora);
- Durante a dádiva irá ser colhida uma amostra de sangue num tubo de citrato (2,7 mL), na qual irão ser doseados os FVIII e FvW;
- Não tem qualquer impacto no pré e pós dádiva, nem no estado geral do dador;
- Os valores obtidos do doseamento dos 2 fatores irão ser comparados com os valores dos doentes que tiverem um evento trombótico;
- Os dados irão ser conservados pelo prazo de 2 anos.



Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética do Centro Hospitalar Universitário de São João/ FMUP.

Caso tenha dúvidas sobre a forma como os seus dados pessoais são tratados, para saber mais sobre os seus direitos no âmbito da proteção de dados, pode entrar em contacto com o Encarregado de Proteção de Dados do CHUSJ através do endereço de email: [epd@chs.jmin-saude.pt](mailto:epd@chs.jmin-saude.pt)

Caso considere que os seus dados não estão a ser objeto de tratamento legítimo, pode, a todo o momento, apresentar uma reclamação junto da autoridade competente, a Comissão Nacional de Proteção de Dados ([www.cnpd.pt](http://www.cnpd.pt))

#### Anexo 4 – Princípio dos métodos coagulométrico e imunoturbidimétrico

O método coagulométrico baseia-se na formação do coágulo de fibrina após adição de um ativador da fase de contato da coagulação e da cefalina, como alternativa aos fosfolípidos da membrana plaquetária. No doseamento do FVIII, à amostra em estudo é adicionado um plasma com déficit deste fator, sendo determinado o aPTT em segundos. O resultado é interpretado utilizando uma curva de referência obtida com curvas de calibração (diluições de plasma-padrão) [Figura 28] (58).

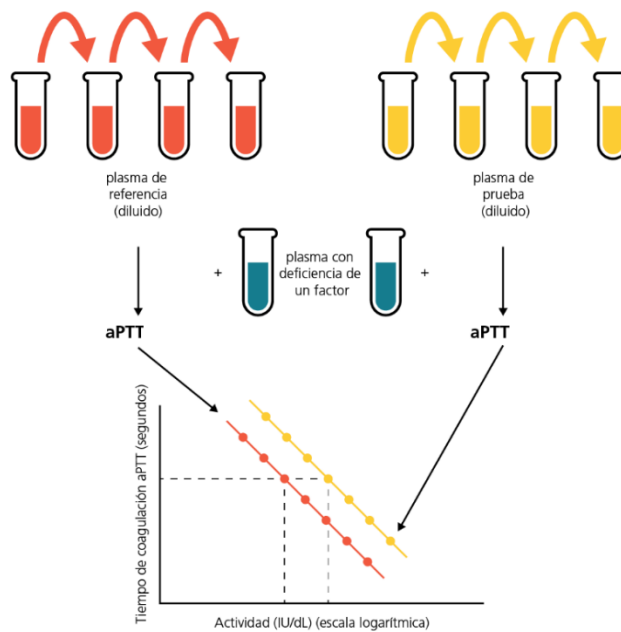


Figura 28: Método coagulométrico para o doseamento do FVIII. Adaptado de Coagulation assays (59).

O método imunoturbidimétrico utiliza partículas de poliestireno dotadas de anticorpos anti-analito em estudo [neste caso o antígeno do FvW (FvW:Ag)], que, ao serem misturadas com a amostra, vão ligar-se ao antígeno através de ligações covalentes. Esta aglutinação é quantificada de modo turbidimétrico pelo aumento da turbidez, que é diretamente proporcional ao nível de antígeno da amostra (60).