

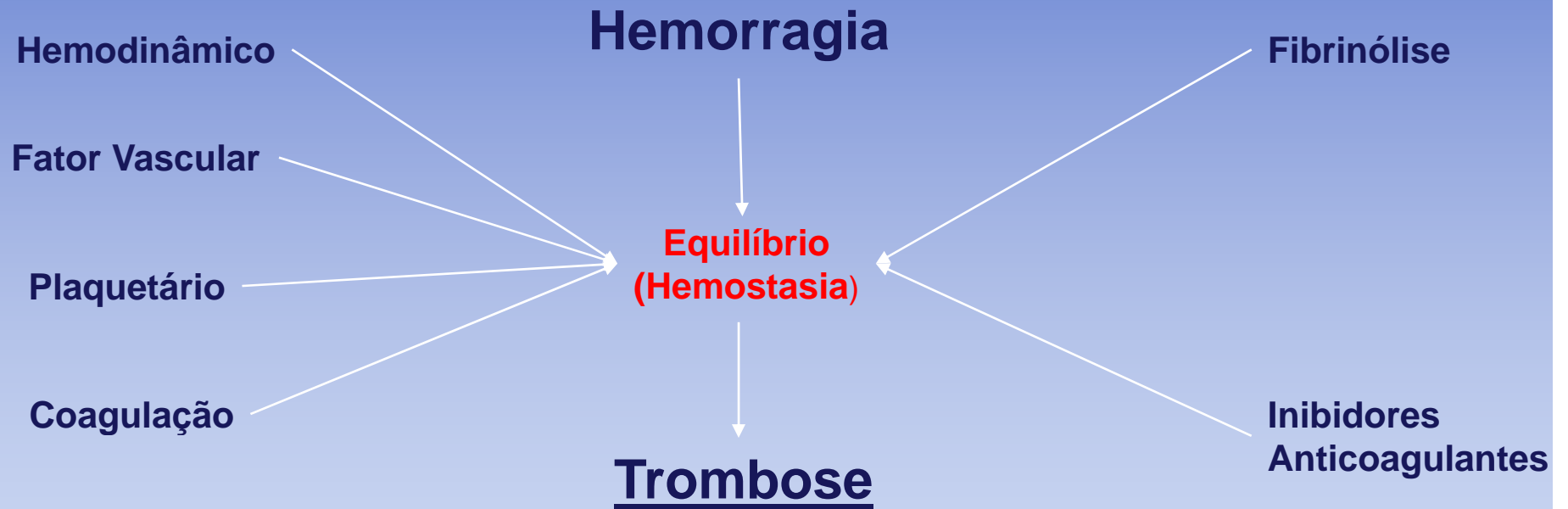
Aspectos laboratoriais em coagulação

DOENÇAS TROMBOEMBÓLICAS

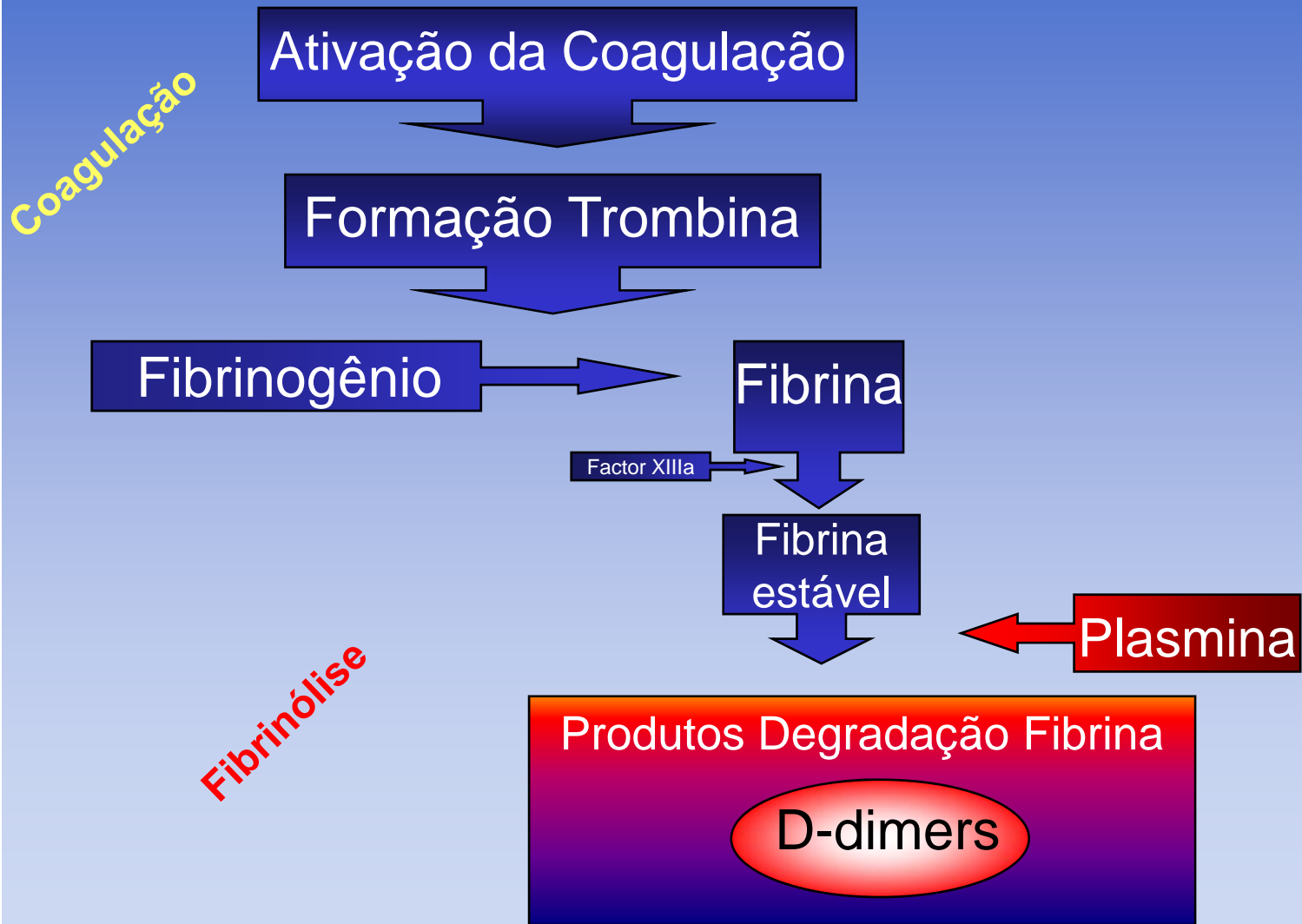
Dr. João Carlos de Campos Guerra

Departamento de Patologia Clínica - HIAE
Centro de Hematologia de São Paulo - CHSP

SISTEMAS ENVOLVIDOS NA HEMOSTASIA



Formação do Dímero-D



Papel do Dímero-D

- O D-dimer é um produto específico da degradação do coágulo de fibrina estabilizado

A ausência do Dímero-D no plasma indica ausência de trombo ? (Valor preditivo negativo)

Níveis elevados de Dímero-D possui valor prognóstico ? (Valor preditivo positivo)

Dados Demográficos - EUA

- Tromboembolismo Venoso – TEV (TVP- EP) ^{1,2}
100.000 - 300.000 casos/ano
300.000 - 600.000 internações/ano.
50.000 óbitos/ano.
- Aproximadamente 75% dos pacientes que se apresentam com suspeita de Tromboembolismo Venoso (TEV) não têm a doença³

¹Hirsh, J. et al., *Management of deep vein thrombosis and pulmonary embolism*, *Circulation*, 1996; 93:2212-45.

²Carter, C. et al., *The epidemiology and pathophysiology of venous thromboembolism*. Armonk: Futura, 1996; 3-20.

³Perrier, A. et al., *Non-invasive diagnosis of venous thromboembolism in outpatients*, *Lancet*, 1999; 353: 190-195.

Etiopatogenia - TEV

Triade de Virchow

```
graph LR; A[Triade de Virchow] --> B[Estase venosa]; A --> C[Lesão endotelial]; A --> D[Hipercoagulabilidade];
```

Estase venosa

Lesão endotelial

Hipercoagulabilidade

D-Dímero - Doença Tromboembólica

Tabela - Fatores de risco para tromboembolismo venoso

- Idade maior que 40 anos
- História anterior de tromboembolismo
- Cirurgia que precisou de mais de 30 minutos de anestesia
- Imobilização prolongada
- Acidente vascular cerebral
- Insuficiência cardíaca congestiva
- Câncer
- Fratura de pelve, fêmur ou tíbia
- Gravidez ou parto recente
- Terapêutica com estrógenos
- Doença inflamatória intestinal
- Trombofilia genética ou adquirida
 - Deficiência de antitrombina
 - Deficiência de Proteína C
 - Deficiência de proteína S
 - Mutação de protrombina G20210A
 - Fator V de Leiden
 - Anticorpos anticardiolipina
 - Anticoagulante lúpico

Tabela 1. Risk Factors for Venous Thromboembolism.

From: Fedullo: N Engl J Med, Volume 349(13), September 25, 2003.1247-1256

D-Dímero - Doença Tromboembólica

Características demográficas e clínicas dos pacientes		
Características	Dímero-D (N=566)	grupo controle (N=530)
Idade (média) em anos	58.6	58.3
Duração sintomas - dias	7.8	7.9
Sexo – M / F	248/318	212/318
Clinicamente provável/clinicamente improvável	317/249	284/246
Antecedente de trombose venosa	102(18.0)	100 (18.9)
% de pacientes com Câncer	51(9.0)	46(8.7)
Cirurgia ou imobilização	82(14.5)	75(14.2)

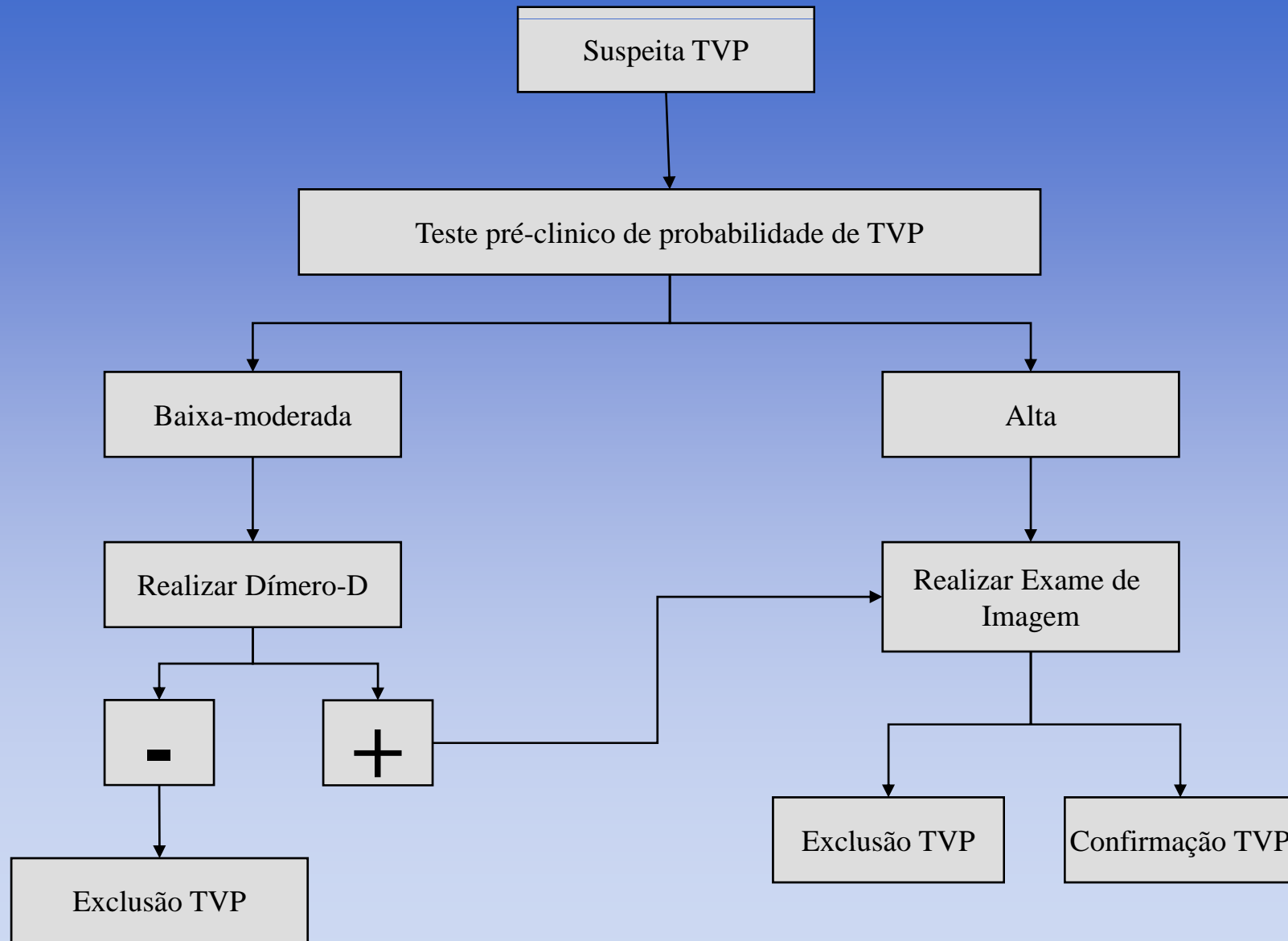
- *From: Wells: N Engl J Med, Volume 349(13).September 25, 2003.1227-1235*

D-Dímero - Doença Tromboembólica

Regras para avaliar a probabilidade de tromboembolismo	
Fatores de risco	Pontos
Sinais e sintomas de TVP	3.0
Trombose venosa é clinicamente mais possível que outro diagnóstico alternativo	3.0
Frequência cardíaca maior que 100 bpm	1.5
Imobilização ou cirurgia nas últimas 4 semanas	1.5
Trombose ou embolia pulmonar anterior	1.5
Hemoptise	1.0
Câncer – tratamento nos últimos 6 meses ou em tratamento paliativo	1.0
Probabilidade clinica	
Baixa	Menor que 2.0
Intermediaria	2.0-6.0
Alta	Maior que 6.0

*Tabela 2. Rules for Predicting the Probability of Embolism.
From: Fedullo: N Engl J Med, Volume 349(13).September 25, 2003.1247-1256*

D-Dímero - Doença Tromboembólica



Seleção do Ensaio de Dímero-D

- *1 em 1000 pacientes estudados irão morrer devido a TEP recorrente, para cada 2% de decréscimo na sensibilidade*
- *Isto é resultado da ausência de terapia anticoagulante*
- *Para excluir a TEP com segurança, a sensibilidade deve se aproximar de 100%*

Dímero-D: performance no evento trombótico agudo

TVP	publicações	pacientes	sensibilidade	especificidade	VPN
		n	(%)	(%)	(%)
ELISA clássico	1	1337	97	35	96
Vidas-DD	4	785	98	41	98
Latex	1	733	83	68	92
Simplired	2	1108	85	71	92
TEP					
ELISA clássica	2	1579	98	43	98
Vidas-DD	2	639	100	44	100
Latex	1	364	92	55	89
Simplired	3	1317	87	68	96
Liatest	1	386	100	35	100

Perrier and Bounameaux. Thromb Haemost 2001

D-Dímero - Doença Tromboembólica

	ELISA
Valor Preditivo Negativo [NV/(NV+FN)]	> 98,6%
Sensibilidade [PV/(PV+FN)]	97,1%
Especificidade Negativa (D-Dímero Negativo/NV)	48,2%

ELISA= enzyme-linked immunosorbent assay

- Aumento de D-Dímero:**
- Idade avançada
 - Gravidez
 - Traumas
 - Pós-operatório
 - Estados Inflamatórios
 - Câncer

High D-dimer levels at presentation in patients with venous thromboembolism is a marker of adverse clinical outcomes

Tabela I : Características dos Pacientes

Nº de pacientes	699
Masc/Fem	360/339
Idade ao diagnóstico [anos (media/intervalo)]	65 (16-96)
Idade > 60 anos	438 pacientes (59,3%)
Dímero-D, mg/l (media/intervalo)	2,3 (0,1 - 43,3)
Dímero-D > 8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml)	115 (17,2%)
<i>Locais de trombose</i>	
TEV acima do joelho	412 (55,9%)
TEV abaixo do joelho	308 (41,8%)
Quadril superior	17 (2,3%)
Presença de neoplasia	188 (25,4%)
Neoplasia subsequente	29 (4,15%)
Tempo de neoplasia subsequente, meses (media/intervalo)	1,6 (0-18)
Recorrência de TEV	36 (5,2%)
Follow up, meses (media/intervalo)	23,2 (0-59)

High D-dimer levels at presentation in patients with venous thromboembolism is a marker of adverse clinical outcomes

Tabela II: Análise Multi-variada para fatores prognósticos nos pacientes com TEV

Variáveis	p-value
OS (sobrevida global)	
Dímero-D > 8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml)	< 0,001
Idade >60 anos	< 0,001
Trombose acima do joelho	< 0,001
Presença de neoplasia	< 0,001
EFS (sobrevida livre de doença)	
Dímero-D > 8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml)	< 0,001
Idade >60 anos	< 0,001
Presença de neoplasia	< 0,001
Trombose acima do joelho	< 0,001

Dímero-D >8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml)

TEV + neoplasia
188 (25,4%) com neoplasia e 29
(4,15%) neo subseq. durante follow up

#

13,4% TEV sem neoplasia

P < 0,0001

Este estudo sugere que níveis muito elevados de Dímero-D na apresentação do TEV, possui valor preditivo para neoplasia

Dímero-D > 8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml) na apresentação não estava associado com diminuição da OS nos pacientes com TEV sem neoplasia

High D-dimer levels at presentation in patients with venous thromboembolism is a marker of adverse clinical outcomes

CONCLUSÃO:

Níveis muito elevados de Dímero-D na apresentação de pacientes com TEV...

- ✓ é um marcador de pior OS e EFS
- ✓ é um indicativo de extensa trombose mas não de recorrência
- ✓ é mais frequente em neoplasia
- ✓ é mais frequente em neoplasia subsequente

Ficar atento para investigação de neoplasia....

- ✓ Pacientes com TEV
- ✓ > 60 anos
- ✓ Dímero-D >8 mg/l (> 8.000 ng FEU/ml)

Estratégia Diagnóstica com Dímero-D

A principal indicação validada clinicamente para o D-dímero é a **EXCLUSÃO** da Trombose em conjunto com o modelo de avaliação da probabilidade pré-teste.

TROMBOFILIA

- Alterações hereditárias ou adquiridas do sistema hemostático que resultam em risco aumentado de trombose

TROMBOFILIA HEREDITÁRIA

- distúrbio genético que predispõe ao desenvolvimento da trombose
- indivíduos jovens
- história familiar de trombose

Trombofilias Hereditárias ou Hipercoagulabilidade Primária

- Redução das proteínas anti-trombóticas:
 - ✓ Deficiência de AT
 - ✓ Deficiência de PC
 - ✓ Deficiência de PS
- Aumento das proteínas protrombóticas:
 - ✓ Fator V Leiden
 - ✓ Mutação G20210A do gene da protrombina
 - ✓ Níveis aumentados dos fatores VIII, IX, XI, VII e FVW

Etiopatogenia - TEV

Causas hereditárias e Adquiridas

Hereditárias			Provavelmente Hereditárias	Adquiridas
Comuns	Raras	Muito Raras		
G1691 A: Mutação no gen do fator V (fator V Leiden)	Deficiência de Antitrombina	Desfibrinogenemia	Níveis elevados de fator VIII, fator IX, fator XI ou Fibrinogênio	Cirurgia ou Trauma
				Imobilização prolongada
				Idade avançada
				Cancer
				Doenças Mieloproliferativas
				Tromboses prévias
				Gestação e Puerpério
G20210A: Mutação no gen da Protrombina (fator II)	Deficiência de Proteína C	Homozigose homocistinúria		Uso de contraceptivos e terapias de reposição
				Resistência à proteína C ativada não causadas por alterações genéticas no fator V
				Anticorpos antifosfolípidos
C677T (homozigose): Mutação no gen do metilenotetrahidrofolato redutase - <u>hiperhomocisteinemia</u>	Deficiência de proteína S			Média a moderada Hiperhomocisteinemia

Freqüência de Trombofilia Hereditária em Indivíduos saudáveis, não selecionados e pacientes selecionados com trombose venosa

Trombofilia Hereditária	Saudáveis		Não Selec.		Selecion.	
	N^o	%	N^o	%	N^o	%
Deficiência de Proteína C	15.070	0,2 - 0,4	2.008	3,7	767	4,8
Deficiência de proteína S	-	-	2.008	2,3	649	4,3
Deficiência de Anitrombina tipo I	9.669	0,02	2.008	1,9	649	4,3
Fator V Leiden	16.150	4,8	1.142	18,8	162	40
G20210A Mutação genética da protrombina	11.932	2,7	2.884	7,1	551	16

Prevalência dos portadores da mutação FVR506Q no Brasil

Grupo étnico	Nº	FVQ506	%
Caucasianos	152	4	2,6
Africanos	97	0	0
Asiáticos	40	0	0
Indígenas	151	1	0,6

Franco e cols., Gen. Mol. Biol., 1999

Condições clínicas associadas à trombose arterial

- Síndrome do Anticorpo-antifosfolípido
- Plaquetopenia induzida pela heparina
- Transplante renal
- Trombofilia hereditária
- Hiper-homocisteinemia
- Cateterização arterial
- Doenças mielo-proliferativas

Síndrome Antifosfolípide (SAF)

- Tromboses arteriais e /ou venosas;
- Complicações obstétricas
- Presença de anticorpos antifosfolípidos

Diagnósticos de SAF



- Anticoagulante lúpico
- Anticardiolipina IgG, IgM ou IgA
- Antifosfatidilserina
- Anti beta 2 glicoproteína 1
- Antiprotrombina

OUTROS MARCADORES PARA TROMBOSE

- Fibrinogênio ou disfibrinogenemias
- F VII
- F VIII
- F IX
- F XI
- Plasminogênio
- Deficiência de cofator II da heparina
- Aumento do PAI-1
- Deficiência do tPA e TFPI
- Trombomodulina anormal

Prevalence of thrombophilia in 444 patients with thrombosis clinical suspicion studied in Albert Einstein Hospital.

João Carlos C. Guerra, MD, Valdir F. Aranda, PhD, Claudio A. Mendes, PhD, Nelson Hamerschlak, MD, Nydia S. Bacal, MD Marjorie P. Colombini, MD, Jacyr Pasternak, MD, Roberta Sitnik, PhD, Claudia H. Graça, PhD and João Renato R. Pinho, MD. Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein. Department of clinical Pathology- Hematology / Coagulation Sector, Albert Einstein Hospital, São Paulo, Brazil.

General Results

Tests	Qt	no alterations	alterations	masc.	fem.	Thrombosis			no thromb.		
						arterial	venous	%			
Factor V Leiden	439	407	32	7,2%	10	22	5	21	81%	6	p<0,0001
Prothrombin	444	419	25	5,6%	8	17	2	18	80%	5	p<0,0001
Protein S	307	231	76	24,7%	26	50	7	34	54%	35	p<0,0001
Protein C	297	264	33	11,1%	16	17	2	15	52%	16	p<0,0001
Antithrombin	319	311	8	2,5%	6	2	2	3	63%	3	
Anti-Cardiolipin	183	156	27	14,7%	14	13	7	15	81%	5	
Lupus Anticoagulant	205	202	3	1,4%	2	1	1	2	100%	0	
Homocistein	218	211	7	3,2%	5	2	1	4	71%	2	

Statistical analysis : X test of Pearson or Fisher exact test

DISCUSSÃO / CONCLUSÃO

- Pacientes com suspeita clínica de trombose:
 - Fator V de Leiden → **7.2 %**
 - Mutação da Protrombina → **5.6 %**
 - Similares a dados de literatura.
- Este estudo mostrou alta prevalência de deficiência de proteína C (**11.1%**) and S (**24,7%**), quando comparados com dados de literatura.
- Muitos exames foram solicitados inadequadamente - na fase aguda da doença ou durante o uso de anticoagulante oral.

Critérios para indicar investigação de trombofilia

(como proposto por Crowther MA e Ginsberg JS)

- Pacientes com menos de 60 anos de idade com o primeiro episódio de trombose venosa “idiopática”.
- História familiar de trombose.
- Trombose em sítios incomuns (veias mesentéricas, hepáticas, SNC).
- Necrose de pele induzida por uso de AVK.
- Flebite superficial recalcitrante.
- Pacientes com TRM ?

Investigação de Trombofilia

(PERFIL TROMBOSE- HIAE)

- Pesquisa de Fator V de Leiden e/ou Resistência a proteína C Ativada.
- Mutação G20210 do gene da protrombina.
- Dosagem de Homocisteína.
- Pesquisa de anticoagulante lúpico / anticardiolipina.
- Dosagem de Antitrombina.
- Dosagem de Proteína C e Proteína S livre.

Quando investigar?

Realizar os testes no mínimo após 3 - 6 meses do episódio agudo

Ensaio moleculares não sofrem interferência nem do momento e nem do tratamento

Na ausência de anticoagulação: 02 semanas após a descontinuidade da anticoagulação oral e 02 dias para heparina

Investigação laboratorial do risco trombótico

Fator de Risco	Ensaio Laboratorial
Deficiência da Antitrombina	Atividade (cromogênico)
Deficiência Proteína C	Atividade (cromogênico)
Deficiência Proteína S	Determinação do antígeno da Proteína S livre e total (ELISA)
Resistência a Proteína C ativada / mutação fator V Leiden	RPCA (TTPa); se anormal FV Leiden ensaio molecular
Mutação Protrombina G20210A	Teste Molecular
Hiper-homocisteinemia	ELISA, HPLC
Anticoagulante lúpico	Ensaio coagulométrico – veneno de víbora de Russell (DRVVT)
Anticardiolipina IgG / IgM	Teste Antigênico ELISA

OBRIGADO

DR. JOÃO CARLOS DE CAMPOS GUERRA

**Departamento de Patologia Clínica - HIAE
Centro de Hematologia de São Paulo - CHSP
jcguerra@einstein.br**