

Artigo / Article

Fragmento 1+2 da protrombina em indivíduos submetidos à angiografia coronariana

Prothrombin fragment 1+2 in subjects undergoing coronary angiography

Luciana M. Lima¹Marinez O. Sousa¹Ana P. Fernandes¹Andréia A. Loures-Vale²Círculo P. Fonseca Neto²José C. F. Garcia²Jamil A. Saad²Maria G. Carvalho¹

A trombina exerce um papel fundamental na conversão do fibrinogênio em fibrina, no processo de coagulação. O fator X ativado transforma a protrombina em trombina e fragmento 1+2 da protrombina (F1+2). Os níveis plasmáticos de F1+2 refletem a geração de trombina e podem ser usados como um marcador de hipercoagulabilidade *in vivo*, já que a trombina é uma substância instável e facilmente degradada, que não pode ser medida diretamente no plasma. O presente estudo teve como objetivo determinar os níveis plasmáticos do F1+2 de um grupo de indivíduos submetidos à angiografia coronariana, buscando estabelecer a possível correlação entre este parâmetro e a gravidade da doença arterial coronariana (DAC). Os níveis plasmáticos do F1+2 foram determinados em amostras de sangue de 17 indivíduos com ausência de aterosclerose nas coronárias (controles), 12 indivíduos apresentando aterosclerose leve/moderada e 28 indivíduos apresentando aterosclerose grave, utilizando-se o conjunto diagnóstico Enzignost F1+2 (Behring® Diagnostics GmbH, Marburg, Germany). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos três grupos para o parâmetro avaliado. Portanto, as médias obtidas nos três grupos para os níveis plasmáticos de F1+2 não sinalizam para a existência de um estado de hipercoagulabilidade na população estudada. Entretanto, 73,7% dos indivíduos faziam uso regular de ácido acetilsalicílico, o que pode ter influenciado nos resultados de F1+2, uma vez que este medicamento promove a inibição da enzima ciclooxigenase, diminuindo a liberação de tromboxane A₂ e a agregação plaquetária. Portanto, presume-se que a redução da ativação plaquetária poderia estar contribuindo para uma menor formação de trombina e, conseqüentemente, diminuindo o potencial de hipercoagulabilidade. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(3):188-191.

Palavras-chave: Trombina; fragmento 1+2 da protrombina; aterosclerose; doença arterial coronariana.

Introdução

As placas de ateroma podem afetar qualquer vaso sanguíneo, mas os principais alvos são as coronárias e os sistemas arteriais, cerebral e periférico. As placas ateroscleróticas que apresentam grande conteúdo lipídico, capa delgada e sinais de inflamação com infiltração de leucócitos sofrem, com frequência, ruptura ou erosão e são classifica-

das como placas instáveis ou vulneráveis.¹ As lesões endoteliais favorecem a formação de trombos que, durante as primeiras fases de evolução da placa, quando o tamanho dessa é ainda pequeno, não comprometem a luz arterial e não modificam um quadro de isquemia preexistente. Desta forma, o trombo incorpora-se à placa de ateroma, que cresce sem resultar em graves conseqüências clínicas. Entretanto, se a luz do vaso já se encontra reduzida inicialmente, um trombo

¹Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

²Hospital Socor, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Correspondência para: Marinez de Oliveira Sousa
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Antônio Carlos, 6627
31270-901 – Belo Horizonte-MG
Tel: 55.31.3499-6896 - Fax: 55.31.3499-6985
E-mail: marinez@farmacia.ufmg.br

pode alterar o equilíbrio e desencadear a isquemia, levando ao evento clínico agudo. Nas coronárias, quando a obstrução que se forma é total e não existe circulação colateral nas proximidades, a consequência é a falta de oxigenação e necrose do miocárdio. A trombose coronariana total é responsável por grande parte dos infartos do miocárdio, e a trombose parcial é responsável por um grande número de casos de angina instável.

A participação dos mecanismos da hemostasia na gênese das placas de ateroma é bem conhecida. Muitas variáveis relacionadas à coagulação estão implicadas no processo de formação da placa de ateroma, através da deposição de fibrina e da ativação de plaquetas. A presença de fibrina no ateroma decorre dos efeitos graduais da ativação da coagulação, das plaquetas e redução da fibrinólise, durante a formação da placa aterosclerótica.² O conhecimento da fisiologia da coagulação possibilita melhor compreensão dos possíveis mecanismos pelos quais a hemostasia pode influenciar na formação da placa de ateroma. Uma vez estabelecida a lesão aterosclerótica, plaquetas, fatores da coagulação e da fibrinólise atuam para produzir o trombo, que obstrui a artéria e interrompe o fluxo sanguíneo, causando morte tecidual e desastrosas consequências.³

Os testes globais da coagulação não são adequados para identificar pacientes com doença cardiovascular. Entretanto, as determinações de alguns fatores, isoladamente, mostram alta correlação entre a ocorrência de eventos trombóticos e a evolução da aterosclerose. São estes: o fator VII, o fibrinogênio, o fator VIII, o fator de von Willebrand e os marcadores de hipercoagulabilidade.⁴⁻⁶

A formação da trombina requer a ação do fator X ativado (Xa) sobre a protrombina. O fator Xa quebra uma ligação peptídica, produzindo dois resíduos: um fragmento amino-terminal denominado fragmento 1+2 e um fragmento carboxi-terminal, que contém o sítio ativo, denominado pretrombina 2. Este último fragmento sofre uma clivagem pelo fator Xa e se transforma na trombina. A trombina é desligada do fragmento 1+2 da protrombina e, desse modo, não permanece ligada à superfície fosfolipídica, ficando livre no plasma.⁷ Os níveis plasmáticos de F1+2 refletem a geração de trombina e podem ser usados como um marcador de hipercoagulabilidade *in vivo*, já que a trombina é uma substância instável e facilmente degradada, que não pode ser medida diretamente no plasma. O presente estudo teve como objetivo determinar os níveis plasmáticos do F1+2 de um grupo de indivíduos submetidos à angiografia coronariana, buscando estabelecer a possível correlação entre este parâmetro e a gravidade da doença arterial coronariana (DAC).

Casística e Métodos

O presente estudo recebeu parecer favorável sob o ponto de vista ético e formal pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Socor e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da

UFMG. Aos indivíduos selecionados para participar do projeto, foi feito o esclarecimento dos objetivos da pesquisa, e aqueles que estiveram de acordo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Uma ficha clínica contendo dados importantes para análise dos resultados foi preenchida em todos os casos.

Foram selecionados 57 indivíduos submetidos à angiografia coronariana, com faixa etária de 40 a 65 anos, no departamento de Hemodinâmica do Hospital Socor, em Belo Horizonte: 17 indivíduos com ausência de aterosclerose nas coronárias (controles), 12 indivíduos apresentando aterosclerose leve/moderada e 28 indivíduos apresentando aterosclerose grave. Foram excluídos do estudo indivíduos com história anterior (até 3 meses) de síndrome coronariana aguda (SCA); em uso de anticoagulantes orais, drogas hipolipemiantes ou estrogênios; portadores de doenças intercorrentes, como distúrbios da coagulação, doenças renais, hepáticas e auto-imunes, *diabetes mellitus* e câncer. As amostras de sangue venoso foram obtidas com o paciente em jejum de 12 horas, utilizando-se tubos de vácuo contendo citrato de sódio como anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por dez minutos para obtenção do plasma.

A determinação quantitativa do F1+2 plasmático foi realizada no plasma citratado através do uso do conjunto diagnóstico Enzignost F1+2 (Behring® Diagnostics GmbH, Marburg, Germany), cujo princípio analítico é o ensaio imunoenzimático (Elisa) de captura, seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante. Um plasma controle fornecido pelo fabricante foi utilizado para verificar o desempenho do ensaio.

Resultados

A análise estatística foi feita utilizando-se o teste de análise de variância (Anova). Os programas Sigma Stat® versão 1.0 e Prism® versão 3.0 foram utilizados para realizar as análises e plotar o gráfico, respectivamente. Valor de *p* menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Os valores das médias obtidas para os níveis plasmáticos de F1+2 nos três grupos são praticamente os mesmos, e, assim, não apresentaram diferenças significativas entre estes. Quase todos os indivíduos avaliados apresentaram níveis plasmáticos de F1+2 na faixa dos valores de referência estabelecida pelo método utilizado. A figura 1 apresenta a distribuição dos valores obtidos para o parâmetro avaliado.

Discussão

As determinações de fragmentos gerados quando zimógenos da coagulação são ativados a partir de enzimas ativas ou de inibidores plasmáticos que ocorrem naturalmente têm sido alvo de diversos estudos que investigam a patogênese e o possível valor preditivo do sistema hemo-

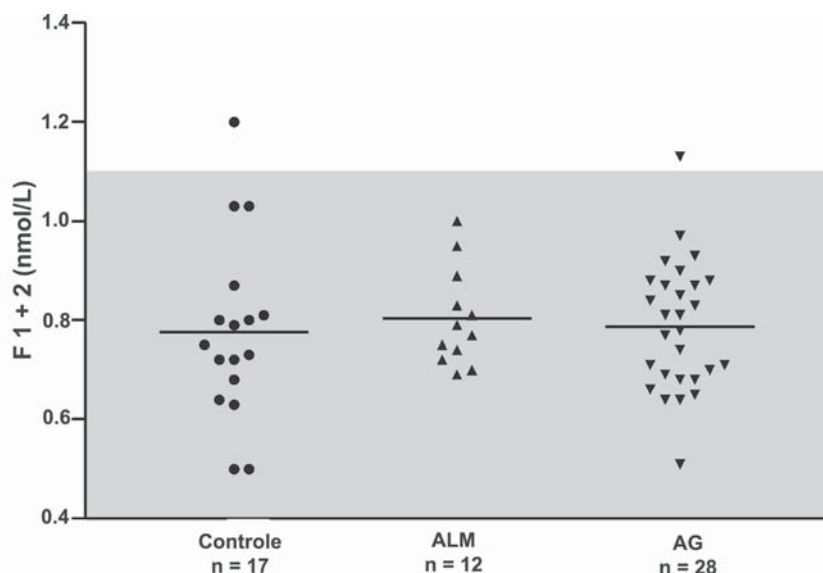


Figura 1. Distribuição dos valores de fragmento 1+2 da protrombina (F1+2). Valores expressos em nmol/L para os grupos controle, ateromatose leve/moderada (ALM) e ateromatose grave (AG). A área sombreada corresponde aos valores de referência (0,4 a 1,1nmol/L) para os níveis de F1+2 e as linhas horizontais representam as médias dos grupos (0,78 \pm 0,18 para o grupo controle, 0,80 \pm 0,10 para o grupo ALM e 0,79 \pm 0,13 para o grupo AG)

tático na progressão da aterosclerose.^{4,8,9} Os marcadores de ativação são inteiramente estáveis, circulam no plasma normal em baixas concentrações e podem ser usados como índices de ativação da coagulação, em condições clínicas em que há suspeita de hipercoagulabilidade e para se estudar o mecanismo que regula a hemostasia,¹⁰ uma vez que a trombina livre no plasma é rapidamente inativada pelo seu inibidor natural, formando o complexo trombina-antitrombina (TAT).

No presente estudo, os valores das médias obtidas para os níveis plasmáticos de F1+2 nos três grupos são praticamente os mesmos, e, assim, não apresentaram diferenças significativas entre estes (Figura 1), portanto, não sinalizam a existência de um estado de hipercoagulabilidade na população estudada. Praticamente quase todos os indivíduos avaliados apresentaram níveis plasmáticos de F1+2 na faixa dos valores de referência estabelecida pelo método utilizado (Figura 1). Apenas um limitado número de estudos em todo o mundo correlaciona a gravidade da aterosclerose coronariana e marcadores de geração de trombina, entre estes o fragmento F1+2. Além disso, os estudos são controversos, tendo alguns destes demonstrado correlações entre a gravidade da aterosclerose coronariana e níveis plasmáticos de F1+2,^{4,11} enquanto outros demonstraram ausência de correlação entre os dois parâmetros.¹² Giannitsis et al (1999)⁴ demonstraram resultados discordantes em relação aos dados ora apresentados, avaliando também 57 indivíduos com diagnóstico de DAC estabelecido por angiografia, considerando também o número de coronárias atingidas. Os indivíduos que apre-

sentaram aterosclerose grave, com 70% de estenose em mais de duas coronárias afetadas, apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de F1+2 em relação aos demais grupos, com diferenças estatisticamente significativas. Entretanto, os autores não especificaram se os indivíduos avaliados estavam em uso de ácido acetilsalicílico. A trombina exerce diversas funções: coagula o fibrinogênio, ativa o fator XIII, é um potente agente agregante plaquetário, produz um *feed-back* positivo ativando os co-fatores V e VIII e acelerando sua própria formação, liga-se à trombosmodulina da membrana da célula endotelial, formando um complexo capaz de ativar a proteína C, que quebra os co-fatores V e VIII, constituindo um *feed-back* negativo.¹³

No caso do atual estudo, 73,7% dos indivíduos faziam uso regular de ácido acetilsalicílico, o que pode ter influenciado nos resultados de F1+2, uma vez que este medicamento promove a inibição da enzima ciclooxigenase, diminuindo a liberação de tromboxane A2 e a agregação plaquetária.¹⁴

Considerando que as plaquetas interagem com os fatores da coagulação *in vivo* fornecendo uma superfície fosfolipídica de carga negativa que favorece a ativação seqüencial daqueles fatores, presume-se que a redução da ativação plaquetária poderia estar contribuindo para uma menor formação de trombina e, conseqüentemente, diminuindo o potencial de hipercoagulabilidade na população estudada.

Abstract

Thrombin plays a basic role in the conversion of fibrinogen to fibrin in the coagulation process. Activated factor X transforms the prothrombin into thrombin and breaks up prothrombin fragment 1+2 (F1+2). F1+2 plasma levels reflect the thrombin generation and can be used as in vivo markers of hypercoagulability since the thrombin is an unstable and easily degraded substance that cannot be directly measured in the plasma. The present study aims at determining the F1+2 plasma levels of a group of subjects undergoing coronary angiography, attempting to establish a possible correlation between this parameter and the severity of the coronary artery disease. F1+2 plasma levels were determined in blood samples of 17 subjects with absence of atheromatosis in coronary arteries (controls), 12 subjects presenting mild/moderate atheromatosis and 28 subjects presenting severe atheromatosis, using the Enzignost F1+2 (Behring® Diagnostics GmbH, Marburg, Germany) diagnostic Kit. Significant differences between the averages for the three groups in respect to the evaluated parameters were not found. Therefore, F1+2 plasma level averages for the three groups did not point to a state of hypercoagulability in the studied population. However, 73.7% of the individuals were taking acetylsalicylic acid, which may have influenced the F1+2 plasma levels, considering

that this medicine promotes the inhibition of the enzyme cyclooxygenase, diminishing the release of thromboxane A2 and the platelet aggregation. Therefore, it is presumed that platelet activation reduction could be contributing to a lower formation of thrombin and, consequently, diminishing the hypercoagulability potential. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(3):188-191.

Key words: Thrombin; prothrombin fragment 1+2; atheromatosis; coronary artery disease.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão de recursos para a execução deste trabalho.

Referências Bibliográficas

- Mohanty D, Ghosh K, Khare A, Kulkarni B. Thrombophilia in coronary artery disease: A double jeopardy. Indian J Med Res 2004; 120:13-23.
- Smith SM. Haemostatic factors and atherogenesis. Atherosclerosis 1996;124:137-143.
- Shin J, Edelberg JE, Hong MK. Vulnerable atherosclerotic plaque: clinical implications. Curr Vasc Pharmacol 2003;1:183-204.
- Giannitsis E, Siemens HJ, Mitusch R et al. Prothrombin fragment F1+2, thrombin-antithrombin III complexes, fibrin monomers and fibrinogen in patients with coronary atherosclerosis. Int J Cardiol 1999;68:269-274.
- Koenig W. Haemostatic risk factors for cardiovascular diseases. Eur Heart J 1998;19:C39-43. Suplemento C.
- Tripodi A, Mannucci PM. Laboratory investigation of thrombophilia. Clin Chem 2001;47:1.597-1.606.
- Scazzioti A, Altman R. El mecanismo de la hemostasia normal. Rev Iberoamer Thromb Hemostasia 1996;1:9-26.
- Jennings I, Cooper P. Screening for thrombophilia: a laboratory perspective. Br J Biomed Sci 2003;60:39-51.
- Van Der Bom JG, Bots ML, Haverkate F et al. Activation products of the haemostatic system in coronary, cerebrovascular and peripheral arterial disease. Thromb Haemost 2001;85:234-239.
- Francis JL. Laboratory investigation of hypercoagulability. Semin Thromb Haemost 1998;24:111-126.
- Kienast J, Thompson SG, Raskino C et al. Prothrombin activation fragment 1+2 and thrombin antithrombin III complexes in patients with angina pectoris: relation to the presence and severity of coronary atherosclerosis. Thromb Haemost 1993;70:550-553.
- Folsom AR, Aleksic N, Park E et al. Prospective study of fibrinolytic factors and incident coronary artery disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001;21:611-617.
- Dahlbäck B. Blood coagulation. Lancet 2000;355:1.627-1.632.
- Knight CJ. Antiplatelet treatment in stable coronary artery disease. Heart 2003;89:1.273-1.278.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 01/07/2005
Aceito após modificações: 08/09/2005