

Anabela Sousa Figueiredo

Fatores de Adesão Plaquetária e Doença Cardiovascular

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2012

Anabela Sousa Figueiredo

Fatores de Adesão Plaquetária e Doença Cardiovascular

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2012

Anabela Sousa Figueiredo

Fatores de Adesão Plaquetária e Doença Cardiovascular

Assinatura do Aluno

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Resumo

Atualmente as doenças cardiovasculares (DCVs) são responsáveis pela elevada taxa de mortalidade e morbidade na maioria dos países, embora nas últimas décadas esta situação se tenha agravado nos países desenvolvidos. Por este motivo, são cada vez mais os estudos que têm vindo a ser realizados de modo a implementar e intervir na população com medidas preventivas.

As DCVs resultam de alterações que afetam o aparelho cardiovascular, particularmente através da deposição de substâncias lipídicas nos vasos sanguíneos e artérias coronárias, confluindo para o seu estreitamento e posterior desenvolvimento de aterosclerose. Neste sentido existem fatores ambientais e fatores genéticos que contribuem para a patogénese e progressão da doença.

Para além dos tradicionais fatores de risco, também os fatores plaquetários que participam na ativação da cascata de coagulação são essenciais para o correto funcionamento do sistema hemostático. Quando este se encontra deficiente a manutenção da integridade vascular e a minimização da perda de sangue ficam comprometidas resultando na formação de trombos que, a longo prazo, originam a trombose.

A importância e a função de cada fator plaquetário para uma correta manutenção da hemóstase e respetivas consequências aquando da sua deficiência/ausência serão abordadas.

Abstract

Actually, cardiovascular diseases (DCVs) are responsible for high mortality and morbidity in most countries, although in recent decades this situation has been worsening in developed countries. For this reason, more studies have been performed in order to implement and intervene with preventive measures in the population.

DCVs are the result of changes that affect the cardiovascular system, particularly through deposition of fatty substances in blood vessels and coronary arteries, converging to its narrowing and subsequent development of atherosclerosis. There are environmental and genetic factors that contribute to the pathogenesis and progression of the disease.

Besides traditional risk factors, platelet factors involved in platelet activation of the coagulation cascade are also essential for the correct function of the hemostatic system. When this system is deficient, the maintenance of vascular integrity and restriction of blood loss are compromised resulting in thrombus formation, which in long term, leads to thrombosis.

The importance of each platelet factor and its function for proper maintenance of hemostasis and respective consequences when they are disabled / absent will be discussed.

Índice

Abreviaturas	v
Figuras	vi
I. Introdução	1
II. Fatores de Risco Cardiovascular	2
1. Fatores de Risco Modificáveis	2
1.1. <i>Diabetes Mellitus</i>	2
1.2. Hipertensão Arterial	3
1.3. Dislipidemias.....	4
1.4. Obesidade	5
1.5. Tabaco	6
1.6. Sedentarismo	7
2. Fatores de Risco Não-Modificáveis	8
2.1. Idade	8
2.2. Género	9
2.3. Fatores Genéticos / História Familiar.....	9
2.3.1. Homocisteína	10
2.3.2. Apolipoproteínas.....	11
2.3.3. Proteína C Reativa	12
2.3.4. Plaquetas	12
i. Hemóstase.....	13
a) Endotélio Vascular.....	13
b) Adesão, ativação e agregação plaquetária	14
c) Cascata de Coagulação	16
d) Mecanismos de Regulação.....	19
e) Fibrinólise	20
ii) Fatores Plaquetários	21
a) Fator de von Willebrand	21
b) Fator Tecidual	24
c) Fator VIIa.....	25
d) Fator Va	27
e) Fator VIIIa	28

f) Fator IXa	29
g) Fator Xa	30
h) Trombina.....	31
i) Fibrinogénio.....	32
j) Fator XIIIa	33
k) Fator XIIa e Fator XIa	34
III. Conclusão	35
IV. Bibliografia	37

Abreviaturas

ADP – Adenosina Difosfato

AMPc - monofosfato cíclico de adenosina

Apo – Apolipoproteína

asTF – *alternatively spliced*

AT III – Antitrombina III

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CBS – Cistationina- β -sintase

CO – Monóxido de Carbono

DCVs – Doenças Cardiovasculares

DM – *Diabetes Mellitus*

DvW – Doença de von Willebrand

fITF – *full-length*

FT – Fator Tecidual

FvW – Fator vonWillebrand

GTP – Guanosina-5'-trifosfato

HCT – Homocisteína

HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade

HMWK – Cininogénio de alto peso molecular

IDL – Lipoproteínas de Densidade Intermédia

IL-6 – Interleucina 6

IMC – Índice de Massa Corporal

INE – Instituto Nacional de Estatísticas

LCAT – Lecitina colesterol-aciltransferase

LDL – Lipoproteínas de Baixa Densidade

Lp (a) – Lipoproteína (a)

MS – Metionina sintetase

MTHFR – Metilenotetrahidrofolato redutase

PAI – Inibidor do ativador do plasminogénio

PCR – Proteína C Reativa

Qm – Quilomícrons

TFPI - Inibidor da via do fator tecidual

tPA – Ativador do plasminogénio tecidual

uPA – Ativador do plasminogénio urinário

VLDL – Lipoproteínas de Muito Baixa Densidade

vWF_{CP} – Protease de clivagem de FvW

WHO – World Health Organisation

Figuras

Figura 1 – Cascata de Coagulação.

Figura 2 – Sistema Fibrinolítico.

I. Introdução

Segundo dados estatísticos da Organização Mundial de Saúde, as DCVs são responsáveis pelo maior número de mortes em todo o mundo. Mais de 17 milhões de mortes foram registadas no ano de 2008, das quais mais de 3 milhões ocorreram em indivíduos com menos de 60 anos de idade e em grande parte poderiam ter sido evitadas (World Health Organization, 2011).

Os principais fatores de risco associados ao desenvolvimento de DCVs são a hipertensão, hipercolesterolemia, tabaco, diabetes, sedentarismo e obesidade (O'Donnell & Elosua, 2008) assim como, uma alimentação inadequada e abuso de álcool (WHO, 2011). No entanto, depende de indivíduo para indivíduo uma vez que fatores como a história familiar, etnia e idade também estão associados ao desenvolvimento destas patologias (O'Donnell & Elosua, 2008).

Neste sentido, os farmacêuticos apresentam um papel ativo na sociedade portuguesa no que diz respeito ao aconselhamento e educação para a saúde.

As DCVs podem resultar de várias alterações no aparelho cardiovascular, sendo uma delas a formação de trombos com o consequente desenvolvimento de doença arterial coronária, aterosclerose, acidente vascular cerebral (AVC), entre outras patologias.

Como tal, estudos epidemiológicos e estudos clínicos têm vindo a ser realizados de modo a contribuir para uma melhor compreensão sobre o efeito da coagulação, da fibrinólise e das próprias plaquetas sobre as DCVs, particularmente no desenvolvimento da aterosclerose.

II. Fatores de Risco Cardiovascular

1. Fatores de Risco Modificáveis

A terapia ideal para os pacientes com elevado risco de desenvolvimento de DCVs requer a avaliação dos vários fatores de risco modificáveis, para implementar a terapia farmacológica adequada de forma a alcançar os valores ideais.

Estes fatores de risco modificáveis incluem o uso de tabaco, sedentarismo, dislipidemias, obesidade, *Diabetes Mellitus* (DM), hipertensão arterial e alimentação inadequada (Cannon, 2007).

1.1. *Diabetes Mellitus*

De acordo com a WHO (2012) o termo DM descreve “*uma desordem metabólica de etiologia múltipla caracterizada por uma hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo dos hidratos de carbono, gordura e no metabolismo das proteínas, resultando de defeitos ao nível da secreção de insulina, da ação de insulina ou ambos os casos*”.

Em 2008, a DM foi responsável por 1.3 milhões de mortes em todo o mundo sendo a sua prevalência estimada em cerca de 10%. No entanto, em países desenvolvidos a sua prevalência é relativamente consistente enquanto nos países menos desenvolvidos o seu predomínio é inferior a 8%. As DCVs são responsáveis por cerca de 60% de mortalidade em indivíduos diabéticos (WHO, 2011).

Os critérios de diagnóstico para a DM correspondem a valores de glicemia em jejum $\geq 126\text{mg/dL}$ ou $\geq 200\text{mg/dL}$ duas horas após a ingestão de 75g de glucose (Prova de Tolerância à Glicose Oral). Um valor $\geq 200\text{mg/dL}$ a qualquer hora do dia também é indicativo de DM.

As causas da DM são múltiplas e podem ser devido a fatores genéticos ou a fatores ambientais. Em alguns casos, esta patologia pode ser atribuída unicamente a uma

deficiente secreção de insulina mas, em outros casos, pode estar relacionado quer com a deficiente produção de insulina quer com a resistência celular a esta hormona.

Podem evidenciar-se três tipos de DM.

A DM tipo 1 ocorre como resultado da deficiência de insulina devido a uma lesão nas células β do pâncreas e usualmente, progride até ao estado de deficiência de insulina absoluta, a partir da qual, os indivíduos passam a ser insulino dependentes. Pode ocorrer em qualquer idade mas geralmente esta situação surge em indivíduos jovens com início agudo.

Na DM tipo 2 a função das células β pancreáticas está preservada até um certo ponto não sendo necessário a injeção de insulina para a sobrevivência do indivíduo. Geralmente, indivíduos não-insulino dependentes foram ou são obesos, sendo desta forma importante uma alimentação equilibrada e atividade física.

Por último, na diabetes gestacional ocorre uma intolerância à glucose apenas detetada durante o período de gravidez, geralmente no final do segundo trimestre, e normaliza após a gestação. Contudo, existe o risco de no futuro se desenvolver DM tipo 2 sendo importante tomar medidas de prevenção para evitar esta situação. É também de igual importância, adquirir uma dieta adequada uma vez que a hiperglicemia afetará a mãe e o filho (Kuzuya *et al.*, 2002).

Uma análise ao relatório efetuado pela *Framingham Study* (Kengne *et al.*, 2010) revelou que, para um grupo de indivíduos da mesma idade e do mesmo sexo, teriam maior probabilidade de AVC, doença coronária ou doença arterial periférica, aqueles que padecessem de DM. Estes resultados foram confirmados posteriormente expandindo os resultados a casos de insuficiência cardíaca, enfarte do miocárdio, morte súbita, fibrilação atrial e eventos cardiovasculares recorrentes (Kengne *et al.*, 2010).

1.2. Hipertensão Arterial

Estima-se que em todo o mundo o aumento da pressão arterial seja responsável por 7,5 milhões de mortes. A sua prevalência global em adultos com idade superior a 25 anos

foi cerca de 40% em 2008, salientando um acréscimo de indivíduos com hipertensão não controlada de cerca de 400 milhões desde 1980. Igualmente à diabetes é nos países mais desenvolvidos que se verifica as maiores taxas de prevalência de hipertensão (WHO, 2011).

De acordo com o Instituto Nacional de Estatísticas (INE), a doença crónica que apresentou maior prevalência em Portugal Continental foi a hipertensão, onde 20% da população referiu ser afetada por este problema de saúde, verificando-se ser a principal causa de consumo de medicamentos (INE, 2007).

A hipertensão, definida como valores de pressão arterial sistólica e diastólica superiores a 140/90 mmHg, respetivamente, resulta de vários fatores de risco tais como a obesidade, ingestão excessiva de sal, idade, tabaco, abuso de álcool e stress (Kraja *et al.*, 2011).

Uma hipertensão prolongada pode resultar em alterações da estrutura e função do coração, incluindo hipertrofia ventricular esquerda, enfarte do miocárdio, fibrilação atrial, AVC, insuficiência renal e cardíaca (Kraja *et al.*, 2011). Para indivíduos entre os 40 e os 70 anos de idade, o risco de DCV duplica por cada aumento de 20 mmHg na pressão arterial sistólica ou 10 mmHg na pressão arterial diastólica. A hipertensão arterial está proximamente relacionada com DM tipo 2 e às suas complicações micro e macrovasculares (Cordero *et al.*, 2011).

1.3. Dislipidemias

A prevalência global de hipercolesterolemia em 2008, entre indivíduos adultos, foi cerca de 39% sendo ligeiramente superior entre o género feminino, com uma prevalência de 40% nas mulheres e 37% nos homens (WHO, 2011).

Através do estudo AMALIA, desenvolvido pela Sociedade Portuguesa de Cardiologia, com o objetivo central de avaliar a prevalência dos principais fatores de risco cardiovascular na população portuguesa, verificou-se uma prevalência de 19,7% para a hipercolesterolemia, sendo esta menos frequente no sexo masculino (18,6%) do que no

sexo feminino (20,7%) e mais acentuado no grupo etário dos 60 aos 69 anos de idade (Perdigão *et al.*, 2011).

As dislipidemias têm uma origem heterogénea e são classificadas em duas grandes classes: dislipoproteinemias primárias ou monogénicas e dislipoproteinemias secundárias.

Dependendo dos níveis elevados ou reduzidos dos lípidos e das lipoproteínas analisadas numa amostra de plasma, as dislipoproteinemias primárias são clinicamente agrupadas em cinco categorias: hipertrigliceridemia, hiperlipidemia mista, hipercolesterolemia isolada, hipoalfalipoproteinemia e hipolipoproteinemia. Pelo contrário, as dislipoproteinemias secundárias derivam de outro tipo de desordens ou de fatores ambientais. Geralmente modificar essas desordens é suficiente para corrigir o problema (Hersberger, 2011).

A hipercolesterolemia é citada como sendo um importante fator de risco para a doença coronária, que resulta essencialmente de níveis elevados de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (Mabushi *et al.*, 2004). As lipoproteínas têm como função transportar os lípidos que se encontram no sangue complexados com proteínas. A fração lipídica consiste maioritariamente em triglicerídeos, colesterol e fosfolípidos (Hersberger, 2011).

1.4. Obesidade

A obesidade é um problema de saúde crescente em todo o mundo. Dados da WHO (2011) revelam 34% de indivíduos com excesso de peso acima dos 20 anos de idade, uma vez que apresentam um índice de massa corporal (IMC) – calculado através do quociente entre o peso (kg) e o quadrado da altura (m) – igual ou superior a 25kg/m^2 em 2008 (WHO, 2011).

Tanto nos adultos como nas crianças, a obesidade tem vindo a aumentar em proporções epidémicas e os seus efeitos adversos são numerosos, especialmente na saúde cardiovascular (Lavie *et al.*, 2009). Excesso de peso ou obesidade abdominal causa ou

exacerba outros fatores de risco metabólicos e cardiovasculares incluindo hipertensão, dislipidemia, resistência à insulina e DM tipo 2 (Canon, 2007).

A obesidade aumenta o volume sanguíneo total e o débito cardíaco. Tipicamente, os doentes obesos têm um maior débito cardíaco mas um menor nível de resistência periférica total.

Com o aumento do volume sanguíneo e pressão arterial, indivíduos obesos ou com excesso de peso desenvolvem geralmente uma dilatação do ventrículo esquerdo e, independentemente da pressão arterial e da idade, a obesidade contribui para um maior risco de hipertrofia ventricular. Esta anomalia, por sua vez, contribui para a dilatação da aurícula esquerda. Estas duas situações não só aumentam o risco de insuficiência cardíaca como o aumento da aurícula esquerda pode aumentar o risco de fibrilação atrial desenvolvendo complicações de morbidade (Lavie *et al.*, 2009).

1.5. Tabaco

Segundo os dados do Eurobarómetro de 2006, 24% da população portuguesa é fumadora, encontrando-se desta forma em 2º lugar simultaneamente com a Eslovénia, com a menor prevalência tabágica. É também um dos países que declara a maior taxa de indivíduos que nunca fumaram (64%) (Precioso *et al.*, 2009).

O fumo do tabaco é constituído por centenas de químicos incluindo o alcatrão que é bastante carcinogénico, nicotina, radicais livres e compostos gasosos como o monóxido de carbono (CO). Em elevadas concentrações, o CO é considerado um químico tóxico que conduz a uma severa hipoxia afastando o oxigénio da hemoglobina.

Por outro lado, o tabagismo também influencia os níveis de outros fatores de risco cardiovasculares, particularmente os níveis lipídicos. Contudo, o risco cardiovascular que exerce sobre a doença coronária é evidente mesmo em indivíduos com níveis reduzidos de colesterol.

Tendo em conta os principais fatores de risco cardiovascular já mencionados, isto é, DM, colesterol e hipertensão, o tabagismo parece ter uma interação múltipla com os

mesmos, ou seja, se o tabaco como fator independente duplica o nível de risco cardiovascular, na presença de outros fatores esse mesmo risco aumenta cerca de 4 vezes (Burns, 2003).

Efeitos tóxicos resultantes do hábito de fumar refletem alterações desfavoráveis na concentração de algumas substâncias que também influenciam negativamente o sistema cardiovascular, nomeadamente a homocisteína (HCT), a proteína C Reativa (PCR) e o fibrinogénio (Sobczak *et al.*, 2008).

1.6. Sedentarismo

De acordo com o Plano Nacional de Saúde 2004-2010, *“Portugal é país da União Europeia com os níveis mais elevados de sedentarismo, onde cerca de ¾ da população com 15 anos ou mais apresentam como principal atividade de tempo livre, ler, ver televisão ou outras atividades sedentárias”* (Direção-Geral da Saúde, 2004). Ao longo dos anos, a industrialização levou a que a maioria das pessoas adquirisse um estilo de vida sedentário conduzindo à obesidade e DCVs (Archer & Blair, 2011).

A *American Heart Association* averiguou que o sedentarismo é o maior fator de risco modificável para as DCVs, tornando-se bastante evidente após décadas de estudos experimentais e epidemiológicos o efeito cardioprotetor que a atividade física exerce como prevenção primária (Archer & Blair, 2011).

O exercício físico associado ao desporto envolvendo predominantemente dinamismo e resistência, induz adaptações cardiovasculares morfológicas e funcionais como o aumento do volume sistólico, a capacidade de dilatação do miocárdio e diminuição da frequência cardíaca. Todas estas alterações detêm um papel na manutenção da perfusão miocárdica adequada durante o exercício físico, de forma a facilitar o fluxo sanguíneo até ao músculo cardíaco.

Assim, um estilo de vida sedentário está associado a um aumento do risco de doença isquémica em cerca de 30% (Pérez, 2008).

2. Fatores de Risco Não-Modificáveis

As DCVs resultam de desordens multifatoriais, para as quais os fatores de risco modificáveis são as principais causas (Tuomilehto, 2004).

Contudo, a ideia de que apenas os quatro maiores fatores de risco modificáveis - tabaco, DM, hipertensão e hipercolesterolemia - são os principais fatores responsáveis pelas DCVs está errada. O estudo sobre os fatores de risco não-modificáveis e as suas causas genéticas é importante de forma a descobrir os novos caminhos relacionados com a aterosclerose (O'Donnell & Elosua, 2008).

2.1. Idade

A idade é um fator de risco cardiovascular ativo em que, cada vez mais devido a um marketing irresponsável suportado por cooperações alimentares multinacionais, há o incentivo ao consumo de “comida de plástico” por parte de crianças e adolescentes, onde o excesso em sal e gordura promovem as DCVs em idades ainda tão jovens (WHO, 2011).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que fatores de risco metabólicos têm tendência a aumentar com o avanço da idade. Por outro lado, apesar de o número de estudos serem limitados a partir de uma certa idade, ensaios clínicos indicam que atenuando os principais fatores de risco cardiovasculares reduz-se a incidência da maioria dos eventos fatais e não-fatais.

De facto, o efeito de reduzir os fatores de risco demonstrou ter um efeito absoluto em indivíduos com uma certa idade e naqueles que possuem um elevado número de fatores de risco (Tuomilehto, 2004).

2.2. Género

Durante muitos anos, considerou-se que as DCVs eram mais frequentes nos homens do que nas mulheres, mas na verdade afetam de igual forma os dois géneros (WHO, 2011).

O género feminino, comparativamente ao género masculino, apresenta maior dificuldade na deteção primária dos sintomas de DCVs, que pode ser resultado do facto do sexo feminino apresentar sintomas mais difusos e atípicos, induzindo o diagnóstico médico. Assim, os médicos mostram-se mais propensos a acreditar que as DCVs são doenças do sexo masculino, atribuindo os problemas femininos a causas emocionais.

A dificuldade de recuperação do sexo feminino após uma intervenção cirúrgica, deve-se à existência de artérias coronárias mais estreitas do que no sexo masculino, podendo levar ao aparecimento de dificuldades durante e após a cirurgia. No entanto, não existe evidência de elevadas diferenças de mortalidade entre homens e mulheres após uma angioplastia (Perelman *et al.*, 2010).

2.3. Fatores Genéticos / História Familiar

A história familiar tem vindo a ser utilizada com sucesso na avaliação do risco cardiovascular. Verificou-se que pessoas de maior idade não apresentam maior suscetibilidade para o desenvolvimento de DCVs do que a restante população em geral, a não ser que tenham, pelo menos, dois membros familiares aos quais tenha sido diagnosticado uma DCV. Um exemplo similar foi observado em famílias com uma história familiar positiva de hipertensão.

Uma vez que algumas doenças parecem partilhar alguns fatores de risco ambientais e apresentam vias fisiopatológicas comuns, a história familiar de uma destas doenças poderá ser relevante para avaliar o risco de outras patologias. Por exemplo, famílias com história cardiovascular são também mais propensas a uma história de hipertensão ou DM.

Uma vez que uma grande parte das famílias têm história familiar de uma ou mais doenças crônicas, é importante capturar informação sobre as várias patologias e os seus fatores de risco, nunca esquecendo que o tabaco, o consumo de álcool, a prática de exercício físico, o peso, hipertensão e DM podem estar correlacionados com a incidência de eventos cardiovasculares e de AVC nos vários membros familiares (Hunt *et al.*, 2003).

Num estudo realizado por Williams *et al* (2001), designado por *Utah Healthy Family Tree Study*, no qual envolveu 122,155 famílias com um historial de eventos cardiovasculares e de AVC, verificou-se que os eventos cardiovasculares precoces estão correlacionados com um historial familiar positivo em doenças cardíacas. Assim sendo, estas famílias necessitam de uma intervenção rigorosa de forma a prevenir o desenvolvimento de DCVs e outros fatores de risco envolvidos nos novos membros familiares (Hunt *et al.*, 2003).

2.3.1. Homocisteína

A HCT é um aminoácido que resulta da desmetilação da metionina proveniente da alimentação, e atua como precursor na síntese da cisteína (Merkel, 2004).

A HCT é denominada como o “colesterol do século 21” ou o “novo colesterol” uma vez que, mesmo quando se apresenta como uma leve hiper-homocisteinémia pode representar um fator de risco para o desenvolvimento de enfarte do miocárdio, AVC, trombose, doença vascular periférica ou ainda, ser responsável por doenças neurodegenerativas (doença de Alzheimer ou doença Parkinson), esquizofrenia, demência ou fraturas osteoporóticas.

A hiper-homocisteinémia revelou influenciar a saúde cardiovascular, sendo que a sua incidência varia entre populações e depende da idade, do género, do estilo de vida (consumo de álcool, café, tabaco ou uso de suplementos vitamínicos) e da variabilidade genética (Malinowska, 2009).

O metabolismo da HCT envolve duas vias principais: a via de transulfuração e a via de desmetilação. Estas vias são fundamentais para a regulação da concentração intracelular de HCT e principalmente, para a manutenção da hemóstase celular.

A eficácia do metabolismo da HCT depende da disponibilidade de folatos e vitaminas B₆ e B₁₂ (cobalamina) que derivam de uma alimentação equilibrada. Contudo, quando os níveis celulares destas vitaminas se encontram deficientes, ocorre a acumulação de HCT e o seu excesso é transportado para o plasma (Cardoso, 2001 & Malinowska, 2009).

Por outro lado, uma hiper-homocisteinémia pode resultar de três doenças genéticas raras, que consistem em defeitos enzimáticos nas duas vias metabólicas, sendo elas: deficiência da enzima cistationina-β-sintase (CBS), deficiência da enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR) ou deficiência na enzima metionina sintetase (MS) (Merkel, 2004).

2.3.2. Apolipoproteínas

As lipoproteínas são moléculas esféricas cujo interior é composto por fosfolípidos e lípidos apolares (triglicerídeos e ésteres de colesterol) enquanto a superfície é composta por apolipoproteínas. O plasma humano contém uma grande variedade de apolipoproteínas representadas pelos cinco diferentes tipos: A, B, C, D, E e apolipoproteína (Apo) (a).

De um modo geral, as apolipoproteínas atuam no metabolismo dos lípidos como cofatores em várias reações enzimáticas, e como ligando para os recetores específicos das lipoproteínas. As apolipoproteínas também exercem a função de manutenção da integridade estrutural das lipoproteínas (Eichner *et al.*, 2002).

A determinação da relação Apo A/Apo B é importante, pois de um modo simples, obtém-se informação sobre o balanço do transporte do colesterol relevante para o risco de desenvolvimento de aterosclerose (Forti & Diament, 2007).

A Apo (a) é responsável pelas propriedades únicas da lipoproteína (a) (Lp (a)), pois esta é composta por apo (a) e LDL. Vários estudos prospectivos demonstraram a associação entre níveis elevados de Lp (a) e risco de doença coronária e AVC devido à existência de partículas de LDL na sua constituição. Estes resultados são independentes da existência de outros potenciais fatores de risco (Erqou *et al.*, 2010).

2.3.3. Proteína C Reativa

A PCR é sintetizada pelos hepatócitos em resposta às citocinas pró-inflamatórias como é o caso da interleucina 6 (IL-6), que é libertada a partir de células ativas no local de inflamação. Por esta razão, a PCR é considerada um marcador não específico de uma inflamação de fase aguda, uma vez que os seus valores aumentam com o processo.

O recente reconhecimento da aterosclerose como um estado inflamatório expandiu o uso clínico da PCR na cardiologia.

Contudo, ainda não está completamente esclarecido o papel da PCR na aterosclerose, isto é, se um aumento da sua concentração apenas reflete o processo inflamatório de uma lesão endotelial propensa ao desenvolvimento de placa aterosclerótica, ou se a PCR tem um papel ativo na iniciação ou progressão da aterosclerose (Grammer *et al.*, 2011).

2.3.4. Plaquetas

As plaquetas desempenham um papel fundamental que, dependendo das circunstâncias, poderá ter um resultado benéfico ou, pelo contrário, prejudicial devido à sua contribuição para o desenvolvimento de aterosclerose através da secreção de mediadores que participam na adesão celular, proliferação e resposta inflamatória. Para além disso, a principal função fisiológica das plaquetas consiste na manutenção da hemóstase, que se baseia na manutenção da integridade vascular e no cessar do sangramento após lesão.

A ativação plaquetária é modulada por fatores estimuladores – adenosina difosfato (ADP), trombina, tromboxano A₂ - e, por fatores inibidores como as prostaglandinas e óxido nítrico (Tousoulis *et al.*, 2010).

i. Hemóstase

A hemóstase consiste num mecanismo homeostático que assegura a manutenção do fluxo sanguíneo nas suas condições fisiológicas, permitindo também, em caso de lesão tecidual, a coagulação localizada nesse mesmo local (Allford & Machin, 2007). Assim sendo, a hemóstase descreve a fisiologia relativa à interrupção do sangramento após uma lesão no vaso sanguíneo. Após a rutura da integridade vascular, ocorre a formação de um trombo no local de lesão tecidual. Portanto, a hemóstase tem como função principal a minimização da perda de sangue e a restauração da integridade vascular sendo que, para tal, é necessário uma interação complexa entre quatro principais componentes: endotélio vascular, plaquetas, a via de coagulação e fibrinólise (Eyre & Gamlin, 2010).

a) Endotélio Vascular

O endotélio vascular previne a formação de trombos pois atua como uma barreira física separando o processo homeostático dos componentes reativos subendoteliais e ainda, devido à sua carga superficial negativa, ajuda a repelir as plaquetas (Allford & Machin, 2007). Desta forma, está equipado com uma série de mecanismos que atenuam a formação de trombos. Assim, previne a ativação plaquetária através da produção de prostaciclina e óxido nítrico, que apresentam uma ação vasodilatadora, e ainda, sulfatos de heparano à sua superfície. Também, devido à presença de antitrombina III (AT III), trombomodulina e o inibidor da via do fator tecidual (TFPI), tem a capacidade de interromper a cascata de coagulação.

É no endotélio vascular que é produzido o fator de von Willebrand (FvW), que é responsável pela mediação da adesão plaquetária e ainda, pela regulação da fibrinólise através da síntese e libertação do ativador do plasminogénio e do seu inibidor.

Após a ocorrência de uma lesão tecidual, o endotélio altera-se para um estado pró-trombótico e pró-inflamatório devido à exposição da membrana basal e da matriz extracelular. Este estado é caracterizado inicialmente por uma vasoconstrição, de modo a parar a hemorragia até que os restantes fatores entrem em funcionamento. O colagénio exposto, o FvW e a fibronectina promovem a adesão plaquetária no local lesado após ativação das plaquetas, promovendo a formação de trombina e a deposição de fibrina na parede vascular.

A formação de trombina e o estado pró-inflamatório do endotélio vascular promovem as etapas necessárias para a reparação vascular (Eyre & Gamlin, 2010).

b) Adesão, ativação e agregação plaquetária

As plaquetas são componentes integrais da hemóstase e circulam próximas da membrana plasmática das células endoteliais. Em circunstâncias normais, estas plaquetas circulam sem qualquer interação entre si (Eyre & Gamlin, 2010).

A adesão das plaquetas é inibida pela presença de elevadas concentrações de prostaciclina e óxido nítrico, embora estas atuem rapidamente em caso de rutura do endotélio. Contudo, para que ocorra a adesão plaquetária, é vital a interação entre elas e o FvW.

O FvW é uma proteína sintetizada pelo endotélio e libertada no tecido conjuntivo subendotelial. Após uma lesão vascular, este fator liga-se às fibras de colagénio extracelular e à glicoproteína membranar específica das plaquetas (GPIb/IX) funcionando como uma ponte entre eles, permitindo que as plaquetas se mantenham aderentes ao endotélio danificado. Este fenómeno é designado por adesão plaquetária (Allford & Machin, 2007).

Após a adesão plaquetária, vários componentes agonistas como por exemplo, o colagénio e a trombina, e outros produzidos nas próprias plaquetas, como o ADP, ligam-se aos recetores membranares específicos e iniciam a transdução de sinal através de mensageiros secundários. Destes, o mais importante é a fosfolipase A_2 , que hidrolisa a fosfatidilcolina e a fosfatidilserina, conduzindo à formação de ácido araquidónico. Este é posteriormente convertido em tromboxano A_2 e prostaciclina (Eyre & Gamlin, 2010).

A ativação das plaquetas é então causada pela ligação dos vários agonistas (trombina, tromboxano A_2 , ADP, colagénio e ácido araquidónico) a recetores específicos. A transdução de sinal é mediada pela proteína G que ativa a adenilciclase promovendo a síntese de AMPc (monofosfato cíclico de adenosina) intracelular. Após a ativação plaquetária, ocorre redução da atividade da adenilciclase e conseqüentemente os níveis de AMPc diminuem.

Para além das reações já descritas, a ativação plaquetária é também acompanhada por uma alteração estrutural das plaquetas em que há uma transformação da sua forma de discos bicôncavos para uma forma esférica com a formação de pseudópodes que permitem o contacto com as restantes plaquetas. Esta alteração estrutural provoca uma contração do citoesqueleto e segregação dos grânulos plaquetários de modo a provocar a retração do coágulo e promover a formação do tampão plaquetário.

Por fim, a ativação plaquetária resulta num aumento da segregação de grânulos plaquetários e a conseqüente agregação plaquetária (Allford & Machin, 2007).

As plaquetas contêm dois tipos de grânulos armazenados, os grânulos densos e os grânulos- α . Estes contêm proteínas específicas, como é o caso do fator de crescimento derivado das plaquetas, glicoproteínas tais como a trombospondina e ainda, proteínas de coagulação incluindo o fator V e a proteína S.

Os grânulos densos contêm ADP, guanosina-5'-trifosfato (GTP), cálcio, magnésio e serotonina.

Como referido, a secreção destes grânulos promove a formação do tampão plaquetário e ainda, aumenta o número de plaquetas a aderir ao local e a sofrerem agregação.

Após a ativação das plaquetas, o recetor membranar da glicoproteína IIb/IIIa sofre uma alteração conformacional permitindo que esta se liga ao fibrinogénio e ao FvW, desempenhando um papel importante na agregação e adesão plaquetária (Eyre & Gamlin, 2010).

c) Cascata de Coagulação

A cascata de coagulação está repartida numa via intrínseca, isto é, todos os fatores necessários estão presentes na circulação, e uma via extrínseca, que é dependente da ativação do fator tecidual (FT) o que ocorre após uma lesão vascular. Aquando da ativação do fator X, as duas vias fundem-se numa via comum, que leva à formação da trombina (Figura 1). A cascata de coagulação envolve três fases: iniciação, amplificação e propagação (Becker, 2005).

Como ilustrado na figura 1, o FT exposto pelo endotélio vascular danificado liga-se ao fator ativo VII (f VIIa). O complexo formado FT/f VIIa, ativa os fatores IX (f IXa) e X (f Xa) (Becker, 2005) na presença do fator V ativo (f Va). O f Xa/Va liga-se à protrombina que produz uma pequena quantidade de trombina, sendo esta insuficiente para a produção de fibrina mas suficiente para amplificar a coagulação, isto é, para induzir a agregação plaquetária e ativar os cofatores dos fatores V e VIII (Eyre & Gamlin, 2010). É através desta sequência de ativações que ocorre a produção de uma pequena quantidade de trombina que irá permitir a amplificação da cascata de coagulação, uma vez que provoca o retorno do ciclo, ou seja, provoca uma nova ativação do fator VII, a sua ligação ao FT e posterior ativação dos fatores IX e X, que por sua vez aumentam a quantidade de f VIIa disponível. A trombina gerada promove de igual modo a ativação dos fatores V e VIII, que também eles aceleram o fator II (protrombina) por ação do f Xa, previamente ativado pelo f IXa. Por último, a trombina tem ainda a capacidade de ativar o fator XI de modo a produzir novamente o f IXa (Eyre & Gamlin, 2010).

Para continuar a produção de trombina e, deste modo, a propagação da cascata de coagulação, a produção do f Xa é mantida pelo complexo formado entre o f VIIIa e o f IXa, designado como *tenase intrínseca* (Eyre & Gamlin, 2010).

Por fim, a trombina previamente gerada em quantidade suficiente, hidrolisa as ligações de arginina-glicina do fibrinogénio de modo a formar monómeros de fibrina que, por sua vez, se ligam covalentemente originando dímeros de fibrina. Simultaneamente, a trombina ativa o fator XIII, que promove a polimerização dos dímeros de fibrina, conduzindo à formação de fibrina insolúvel. Através de ligações cruzadas com as plaquetas há a formação de um coágulo estável de fibrina (Allford & Machin, 2007).

A via intrínseca é iniciada pelo contacto entre o cininogénio de alto peso molecular (HMWK), a pré-caliceína e o fator XII que entram em contacto com uma superfície carregada negativamente, formando um complexo com o colagénio subendotelial.

O fator XII liga-se ao HMWK sendo convertido num fator ativo (f XIIa). Este, por sua vez, converte a pré-caliceína em caliceína e o fator XI na sua forma ativa (f XIa). Após a ativação do fator IX por ação do f XIa dá-se a continuação sequencial das reações que envolvem a cascata de coagulação, incluindo a *tenase intrínseca* e a ativação do fator X. Assim, dá-se a conversão das duas vias numa via comum, sendo que o f Xa é responsável pela ativação da protrombina e a formação de trombina (Figura 1) (Gorbet, & Sefton, 2004).

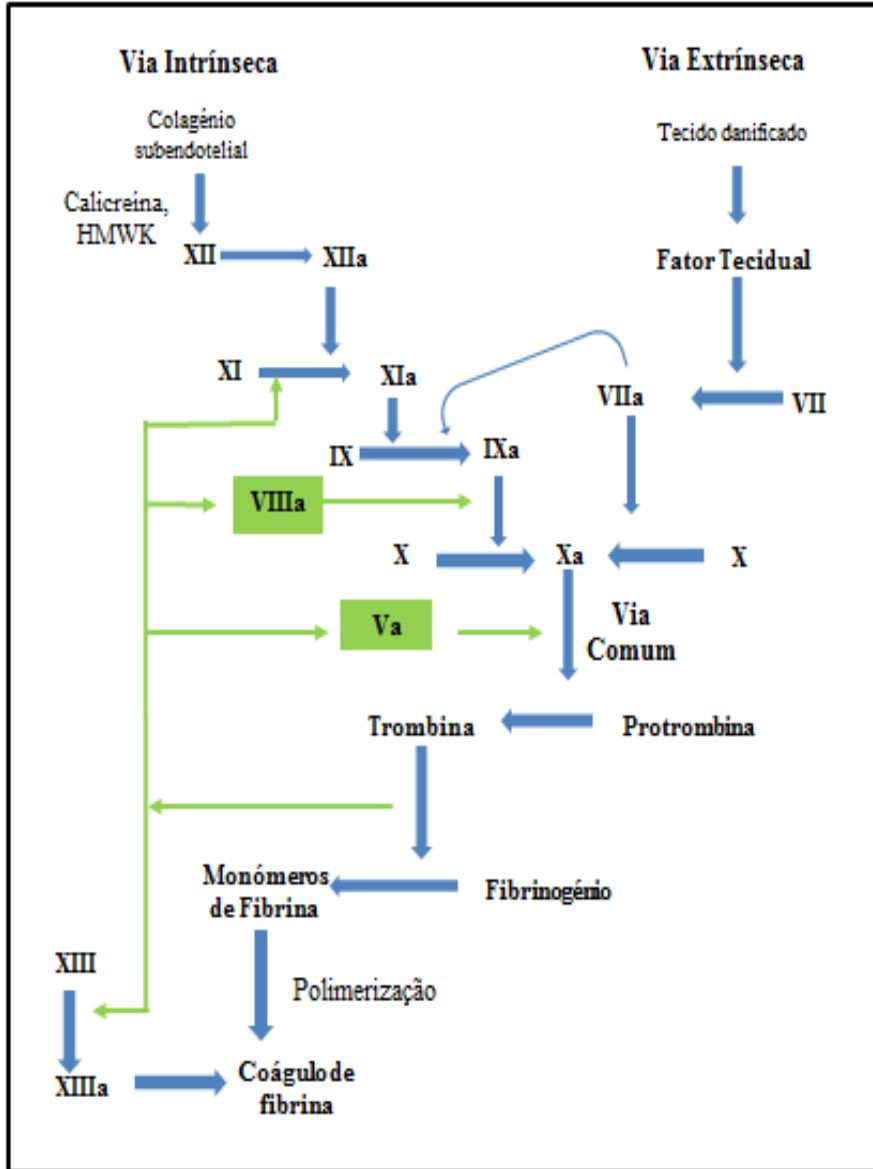


Figura 1: Cascata de Coagulação. HMWK: cininogénio de alto peso molecular.

d) Mecanismos de Regulação

Níveis elevados de trombina ativam o fator XIII levando à formação de um coágulo estável de fibrina (Eyre & Gamlin, 2010). Contudo, *in vivo*, existe uma tendência natural para a coagulação do sangue, sendo importante a presença dos vários anticoagulantes naturais que são parte integral da hemóstase (Minors, 2007).

Os fatores anticoagulantes foram identificados como pertencendo ao grupo das serinas, sendo elas a AT III, trombomodulina, proteína S, o cofator II da heparina, o TFPI e a proteína C ativada (Minors, 2007). Contudo, pensa-se que apenas a AT III e o cofator II da heparina sejam os fatores mais significativos da hemóstase (Allford & Machin, 2007).

A AT III consiste numa protease plasmática que neutraliza a trombina e outros fatores de coagulação tais como os fatores IXa, Xa, XIa (Johari & Loke, 2012) e XIIa (Minors, 2007). O complexo formado entre a AT III-trombina é facilmente potenciado pela presença da heparina (Johari & Loke, 2012).

A trombomodulina é secretada pelas células endoteliais e liga-se à trombina. O complexo formado entre estes dois componentes provoca a perda da atividade pró-coagulante da trombina, tornando-se um componente de elevada eficácia anticoagulante. Este complexo aumenta a ativação da proteína C que rapidamente inativa os fatores Va e VIIIa e aumenta a fibrinólise limitando assim uma coagulação excessiva (Allford & Machin, 2007). Por sua vez a proteína S, atua como cofator da proteína C ativada, acelerando esta reação (Johari & Loke, 2012).

O TFPI é uma proteína, que inibe o complexo FT/f VIIa, que consequentemente origina uma diminuição da ativação dos fatores IX e X diminuindo a ativação da cascata de coagulação.

Como é possível verificar, o processo homeostático envolve um largo número de interações entre componentes celulares e moleculares e, enquanto o sistema de coagulação é considerado como sendo apenas um processo de formação de coágulos, também ele desempenha um papel fundamental nos mecanismos de reparação e de defesa (Eyre & Gamlin, 2010).

e) Fibrinólise

A fibrinólise consiste no processo pelo qual a fibrina é degradada por ação da plasmina.

Como descrito anteriormente, o coágulo inicial de plaquetas é posteriormente reforçado pela formação de polímeros de fibrina, sendo que esta se liga às plaquetas através de ligações cruzadas mediadas pelo f XIIIa. Este fator, para além da ação que exerce na polimerização dos dímeros de fibrina, também promove a ligação da fibrina à α_2 – antiplasmina, protegendo desta forma o coágulo da fibrinólise.

Contudo, a fibrinólise é caracterizada como sendo um pré-requisito para uma normal hemóstase, uma vez que alguns autores verificaram a existência de uma possível tendência trombótica em indivíduos com deficiência de plasminogénio (Allford & Machin, 2007).

É através do plasminogénio (enzima inativa) que se dá a formação da plasmina, a enzima ativa que tem como principal função degradar a fibrina (Figura 2). Os principais ativadores fisiológicos do plasminogénio são o ativador do plasminogénio tecidual (tPA) e o ativador do plasminogénio urinário (uPA) e ambos promovem a sua conversão em plasmina (Franco, 2001). Esta, para além de degradar a fibrina também exerce ação sobre outros substratos como o fibrinogénio, fator V, VIII e XIII (Allford & Machin, 2007).

O tPA é um ativador fraco quando se encontra sob a forma livre, apresentando baixa afinidade para o plasminogénio. Para que a sua ação seja significativa e eficaz, é necessário que se ligue ao plasminogénio que se encontra ligado à fibrina no local de trombo. A ação da plasmina está limitada ao local onde permanece o coágulo, uma vez que a plasmina livre que se encontra no plasma é inativada pela enzima α_2 – antiplasmina que se localiza no sangue (Figura 2) (Minors, 2007).

Contrariamente ao tPA, o uPA promove uma ativação mais extensa pois não necessita especificamente da presença de fibrina.

Por outro lado, o plasma contém inibidores dos ativadores do plasminogénio (PAI), cujo representante principal é o PAI-1, e inibidores da plasmina que limitam a fibrinólise. Os

primeiros inibem diretamente o tPA, e os segundos inativam eficazmente a plasmina (Figura 2) (Franco, 2001).

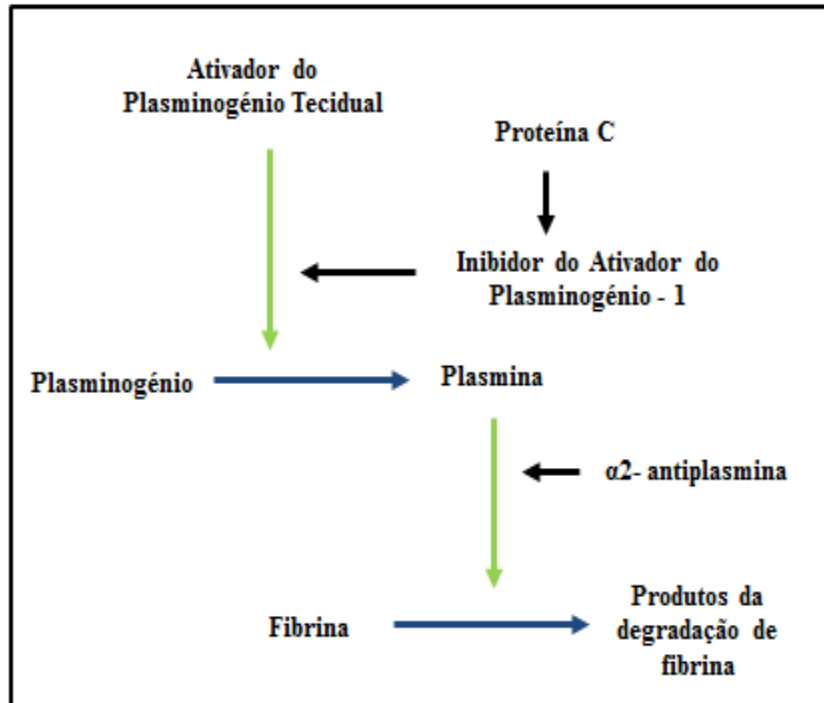


Figura 2 – Sistema Fibrinolítico.
Setas pretas indicam inibição. Setas verdes indicam ativação.

ii) Fatores Plaquetários

a) Fator de von Willebrand

Na circulação sanguínea, a adesão plaquetária aos componentes expostos da matriz extracelular é mediada pelo FvW, sendo determinante para a formação de trombos no local de lesão vascular (Fuchs *et al.*, 2010).

O FvW caracteriza-se como sendo uma glicoproteína que, para além do seu papel como mediador da adesão plaquetária tem também como função a manutenção da hemóstase, uma vez que a sua deficiência ou disfunção origina uma alteração na coagulação, conhecida como a doença de von Willebrand (DvW) (Pimanda & Hogg, 2002). Esta doença resulta de um problema hereditário na coagulação e deve ser tida em conta

sempre que surja um doente com história de hemorragias mucocutâneas repetidas (João, 2001).

A produção do FvW está restrita às células endoteliais e aos megacariócitos. O gene que codifica o FvW localiza-se no braço curto do cromossoma 12 e o mRNA codifica um precursor preproFvW de 2813 aminoácidos. Este precursor é composto por uma sequência sinal de 22 aminoácidos, uma sequência pró de 741 aminoácidos, sendo a forma madura deste fator constituída por 2050 aminoácidos. Após entrada no retículo endoplasmático, ocorre clivagem do péptido sinal e as cadeias de proFvW ligam-se formando dímeros. Estes são posteriormente transportados para o aparelho de Golgi onde são modificados por reações de glicosilação e sulfuração formando multímeros. No final deste processo de multimerização as sequências pró são removidas por proteólise e as proteínas FvW libertadas das células endoteliais.

Quando o FvW é produzido nas células endoteliais, este é armazenado e segregado sob a forma de corpos de Weibel Palade, sendo libertado em resposta à secreção de trombina, fibrina e histamina (Pimanda & Hogg, 2002). No caso de a sua produção ocorrer nos megacariócitos, o FvW é armazenado nos grânulos- α , sendo igualmente libertado face aos estímulos já referidos (João, 2001).

Para que seja possível o armazenamento do FvW nos megacariócitos ou nas células endoteliais é essencial que ocorra a sua clivagem, sendo esta assegurada pela protease de clivagem de FvW (vWFCP), por um mecanismo ainda desconhecido (Pimanda & Hogg, 2002). Esta etapa é importante na medida em que o seu armazenamento pode não ocorrer, se existir uma mutação que impeça a clivagem deste fator (João, 2001).

De uma forma sucinta é possível enumerar as principais funções do FvW. Sendo que a primeira, consiste na mediação da adesão plaquetária aos locais danificados onde, funcionando como uma ponte, faz a ligação entre os recetores membranares das plaquetas (glicoproteínas Gp Ib e GpIIb/IIIa) e as fibras de colagénio que se encontram no subendotélio exposto. Secundariamente, como é responsável pela agregação das plaquetas no local danificado, também exerce uma ação fundamental na formação do trombo. Por fim, assume a função de proteger o fator VIII da cascata de coagulação, da degradação plasmática para, desta forma, não sofrer inativação por ação da proteína C ativada nem sofrer uma ativação pelo f Xa (João, 2001).

A DvW é normalmente causada por mutações no gene do FvW no cromossoma 12. Dependendo da mutação, os doentes podem apresentar uma deficiência parcial (tipo 1 e tipo 2) ou total (tipo 3) do FvW (Galen *et al.*, 2012).

Na DvW tipo 1 existe uma redução da quantidade de FvW. A maioria dos casos pertence a este tipo, sendo transmitida de forma autossómica dominante (João, 2001).

Na deficiência tipo 2, o efeito sobre o FvW não é essencialmente quantitativo, mas sim qualitativo de acordo com os defeitos funcionais que podem ocorrer (Galen *et al.*, 2012). Pode resultar tanto de uma montagem enfraquecida dos multímeros do FvW, devido à perda dos multímeros de peso molecular alto e intermédio, como de um aumento da sensibilidade dos mesmos à clivagem proteolítica. Foram já identificadas mais de 50 mutações no gene do FvW que contribuem para a deficiência tipo 2 (Pimanda & Hogg, 2002). A sua transmissão pode ocorrer de forma autossómica dominante ou autossómica recessiva (João, 2001).

Pacientes com a DvW do tipo 3 apresentam a inexistência completa do FvW e como tal, é transmitida de forma autossómica recessiva (João, 2001). Apesar da sua raridade, é fundamental estudar o possível efeito protetor entre a deficiência de FvW e a aterogénese (Galen *et al.*, 2012).

Pode ainda haver situações de DvW adquirida que não está associada a qualquer história familiar, surgindo repentinamente, geralmente associada a outras patologias. Assim, surgiu a classificação da DvW adquirida em dois grandes grupos: DvW adquirida induzida por anticorpos e não induzida por anticorpos. A primeira hipótese resulta da ligação de anticorpos ao FvW eliminando os seus multímeros por meio de uma reação de catabolismo. Já a segunda pode resultar de uma diminuição na síntese do FvW pelas células endoteliais, da sua proteólise ou da sua adsorção/absorção por células malignas (João, 2001).

A contribuição do FvW para a aterogénese é ainda desconhecida. Contudo, tem sido reconhecido o efeito do FvW na promoção da adesão plaquetária na matriz subendotelial tal como o seu papel no recrutamento de monócitos, dos quais derivam os macrófagos que participam no desenvolvimento da placa aterosclerótica (Pimanda & Hogg, 2002). No entanto, autópsias demonstraram que nem os doentes com DvW do tipo 3 estão completamente protegidos da aterosclerose. Pelo contrário, a doença arterial

isquémica coronária tem surgido em pacientes com DvW. Ainda assim, existe uma impressão clínica de que a DvW confere proteção a eventos isquémicos (Galen *et al.*, 2012).

b) Fator Tecidual

O FT consiste numa glicoproteína transmembranar sendo o maior regulador da hemóstase e da trombose.

Após a ocorrência de uma lesão vascular, o FT fica exposto para a corrente sanguínea e o seu domínio extracelular liga-se ao fator VII ativando-o, iniciando deste modo a via extrínseca da cascata de coagulação. O complexo FT-f VIIa ativa os fatores IX e X, que por sua vez contribuem para a formação de trombina, a maior agonista da formação de fibrina, da ativação plaquetária e da trombose.

A atividade proteolítica do complexo FT-f VIIa é fortemente regulada pelo TFPI, que não só se liga ao complexo anterior inibindo-o, como também exerce uma ação inibitória direta sobre o f Xa, inativando a formação de trombina. O FT tem vindo a ser identificado na maioria das células que se encontram no interior e na matriz extracelular da placa aterosclerótica (Viles-Gonzalez & Badimon, 2004).

O paradigma de que a trombose arterial se desenvolve após uma lesão vascular quando a parede do vaso fica exposta ao fluido sanguíneo, foi alargado pela descoberta da presença do FT na circulação sanguínea sob a forma de micropartículas. Os monócitos e as placas ateroscleróticas demonstraram ser fontes de micropartículas contendo FT que se encontram em circulação podendo representar um risco adicional para o desenvolvimento de eventos trombóticos (Viles-Gonzalez & Badimon, 2004). Significa então que após uma lesão na placa, as células que fazem parte da sua organização ficam em contacto com a circulação sanguínea, iniciando-se a cascata de coagulação por intermédio do complexo FT-f VIIa (Tremoli *et al.*, 1999).

Como resultado de diferentes mecanismos de modificação pós-transcripcionais, o FT apresenta duas isoformas: *full-length* (flTF) e *alternatively spliced* (asTF). A primeira isoforma representa a maior fonte de atividade pró-coagulante estando também

envolvida noutros processos como sinalização celular, progressão tumoral e manutenção da hemóstase. A asTF apresenta uma atividade pró-coagulante inferior à fITF e tem demonstrado aumentar a sobrevivência celular, a proliferação celular e a angiogénese. Relativamente à sua atividade pró-coagulante, os estudos são controversos comparativamente à isoforma fITF. Ainda assim, a isoforma fITF influencia outros processos fisiopatológicos no sistema cardiovascular tais como a manutenção da integridade estrutural cardíaca e a cicatrização de lesões. Conclui-se então que as duas isoformas do FT estão envolvidas no desenvolvimento de DCVs e em processos regenerativos (Eisenreich & Rauch, 2010).

c) Fator VIIa

O fator VII é uma protease de serina dependente de vitamina K e apresenta um papel fundamental na iniciação da via extrínseca da cascata de coagulação, podendo estar relacionado com a fisiopatologia da aterosclerose (Saigo *et al.*, 2004). Este fator consiste numa glicoproteína que circula no plasma sob a forma de uma conformação específica que limita o acesso ao seu local ativo. No entanto, a maioria dos indivíduos apresenta na circulação plasmática 1 a 2% deste fator na sua forma ativa (Girard & Nicholson, 2001).

Os primeiros estudos sobre este fator identificaram uma correlação entre níveis elevados de f VIIa e risco de doença cardíaca isquémica. Mais tarde, foi descoberto um polimorfismo no gene do fator VII que resulta numa redução da sua forma ativa na concentração plasmática. Esta situação está associada a um menor risco de desenvolvimento de enfarte do miocárdio em pacientes com doença arterial coronária grave (Girard & Nicholson, 2001).

Como já mencionado, o f VIIa forma um complexo com o FT após a ocorrência de uma lesão no endotélio vascular. Este complexo, por sua vez, converte os fatores X e IX nas suas formas ativas que desencadearão as reações necessárias para a formação de trombos e da rede de fibrina. Assim sendo, o f VIIa está envolvido na iniciação da coagulação sanguínea tanto para a manutenção da hemóstase como da trombose.

O f VIIa também está presente na circulação plasmática associado à AT III. Em relação a este complexo, estudos *in vitro* demonstraram que o f VIIa sozinho reage de uma forma muito reduzida com a AT III, sendo fundamental para esta associação a presença do FT e da heparina. Uma vez formado o complexo FT/f VIIa a ligação e a transferência do f VIIa para a AT III é facilitada e a atividade deste fator é inibida. Esta questão sugere que poderá existir uma relação entre a concentração plasmática de f VIIa/AT e o grau de exposição intravascular de FT, o qual poderá apresentar uma certa relevância clínica (Silveira *et al.*, 2012).

Após a ativação da via extrínseca de coagulação, dois mecanismos foram descritos como sendo os responsáveis pela inibição e controlo desta via: o mecanismo do TFPI e o mecanismo da AT III (Simioni & Spiezia, 2011).

O TFPI consiste no inibidor fisiológico do FT. A maior fonte do TFPI são as células endoteliais embora as células do músculo liso, as plaquetas, os monócitos e os macrófagos também sejam capazes de expressar este inibidor (Saigo *et al.*, 2004).

O papel principal do TFPI consiste em contrabalançar a atividade pró-coagulante do complexo FT/f VIIa. O mecanismo pelo qual o TPFPI atua consiste na sua ligação ao fator Xa, que por sua vez inibe o complexo FT/f VIIa através da formação de um complexo quaternário com TF/f VIIa/f Xa.

São necessários vários estudos para clarificar os mecanismos fisiopatológicos em que o TFPI está envolvido, no entanto várias análises demonstraram a existência de duas isoformas: TFPI α e TFPI β que apresentam algumas diferenças entre si, inclusive funções fisiológicas distintas.

A presença do TFPI nas células endoteliais poderá prevenir a ativação da coagulação através da redução da quantidade de FT na corrente sanguínea. Por outro lado, quando é expresso na superfície plaquetária apresenta a capacidade de limitar o crescimento dos trombos que são formados após lesão vascular (Rao & Mackman, 2010).

O f VIIa apenas é sensível à inibição da AT III quando se encontra ligado ao FT, sendo que o complexo f VIIa/AT resulta da quantidade de FT presente na circulação. Para a formação deste complexo e consequente inibição da via do FT de coagulação, é essencial a presença de heparina (Simioni & Spiezia, 2011).

Silveira *et al* (2012) desenvolveram um estudo no qual avaliaram os níveis de f VIIa/AT em pacientes com um historial de trombose arterial. Esse estudo demonstrou que o complexo f VIIa/AT se apresentou ligeiramente superior no grupo de pacientes que sofreram de um evento cardiovascular, comparativamente ao grupo de indivíduos saudáveis. Em relação a um pequeno grupo de crianças com um historial de AVC, os resultados duplicaram comparativamente ao grupo anterior. Estes investigadores tiveram ainda a oportunidade de estender esta análise a indivíduos numa situação de pós-enfarte do miocárdio (*SCARF study*) e, tal como se verificou na análise anterior, a concentração plasmática do complexo f VIIa/AT demonstrou ser mais abundante entre o grupo de estudo do que no grupo controlo. Contudo, numa análise prospetiva, níveis elevados deste complexo não demonstraram qualquer relação para o desenvolvimento de DCVs (Silveira *et al.*, 2012).

Concluindo, de acordo com os estudos publicados é possível verificar que existe uma base sólida entre indivíduos com historial cardiovascular e uma concentração plasmática elevada do complexo f VIIa/AT, sendo possível que este complexo apresente um “efeito de memória” em pacientes com eventos trombóticos prévios, isto é, que apresente a possibilidade de determinar possíveis recorrências cardiovasculares (Simioni & Spiezia, 2011).

d) Fator Va

O fator V está presente na circulação plasmática em cerca de 80% da sua concentração, e os restantes 20% encontram-se armazenados nos grânulos α das plaquetas. A sua síntese ocorre maioritariamente nos hepatócitos.

Até o fator V ser convertido na sua forma ativa, este apresenta uma atividade pró-coagulante muito reduzida, senão mesmo nula. Após a sua ativação e, simultaneamente com o f Xa na presença de cálcio, a taxa de ativação da protrombina aumenta em cerca de 300000 vezes.

Um defeito no fator V pode resultar em fenótipos hemorrágicos (deficiência de fator V) ou trombóticos. Uma deficiência deste fator resulta numa desordem rara de hemorragia

e pode ser dividida em tipo 1 e tipo 2. Uma deficiência do tipo 1, também conhecida como para-hemofilia, consiste numa desordem autossômica recessiva e foram reconhecidas 23 mutações pontuais no gene do fator V em pacientes com esta deficiência. A maioria das mutações dá origem a alelos nulos devido a uma mutação do tipo *frameshift* ou *nonsense*. Posto isto, a tendência dos pacientes para o sangramento é relativamente baixo.

O único defeito genético do fator V associado a uma deficiência do tipo 2 consiste numa mutação que não prejudica a sua síntese e secreção, mas interfere com a sua estabilidade, resultando numa atividade coagulante reduzida.

Embora inicialmente, aquando da sua descoberta, a deficiência do fator V fosse exclusivamente associada a distúrbios hemorrágicos, nos últimos anos o seu interesse tem-se direcionado para a trombofilia devido à descoberta de uma mutação, que afeta principalmente pacientes com doenças tromboembólicas. Essa mutação, designada como FV_{Leiden}, foi responsável pelo desenvolvimento de resistência à proteína C ativada, uma vez que afeta um dos seus locais alvo, prejudicando a sua atividade na inativação dos f Va e f VIIIa.

Assim, a presença do alelo FV_{Leiden} aumenta o risco de uma trombose venosa sendo que, esta mutação concomitantemente com outras duas – FV_{Cambridge} e FV_{HongKong} – que também contribuem para a resistência à proteína C ativada, são igualmente responsáveis pela perda da atividade pró-coagulante do f Va. Estas duas últimas mutações foram descobertas em pacientes com trombose, embora não se tenha conseguido provar para a população em geral um aumento de risco de desenvolvimento de trombose (Duga *et al.*, 2004).

e) Fator VIIIa

O fator VIII, uma glicoproteína essencial da coagulação sanguínea, na sua forma ativa funciona como cofator da protrombina e da *tenase intrínseca*.

Esta glicoproteína circula na sua forma inativa ligada ao FvW, sendo que a sua ativação é induzida pela trombina levando à ativação do fator X. Uma vez induzida a ativação do

fator VIII, este fator dissocia-se do FvW e concentra-se em se ligar à superfície fosfolípídica do fator IX ativando-o. A ativação do fator IX levará à sequente ativação do fator X.

Deficiências qualitativas ou quantitativas do fator VIII resultam num distúrbio hemorrágico denominado como hemofilia A. Esta patologia consiste numa desordem que resulta de uma deficiência funcional do fator VIII e que conduz a uma tendência hemorrágica cuja gravidade pode ser variável. Esta desordem pode resultar de um grande número de mutações no gene do fator VIII, algumas das quais conduzem a proteínas disfuncionais circulantes, enquanto outras afetam a secreção, expressão ou a estabilidade deste fator (Fang *et al.*, 2007).

Até à data foram vários os estudos desenvolvidos para determinar o risco cardiovascular em pacientes com hemofilia. De acordo com o *The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study* existe uma associação entre o fator VIII e doença cardíaca isquémica em mulheres. No entanto, a significância deste estudo ficou reduzida após terem sido feitos ajustes para a concomitância com outros fatores de risco. Também no *Cardiovascular Health Study* o fator VIII foi associado com um aumento da mortalidade entre homens com doença cardíaca coronária e entre mulheres que tenham sofrido de um AVC (Saigo *et al.*, 2004).

De um modo geral, é fundamental investigar as propriedades bioquímicas do fator VIII e avaliar as potenciais consequências de mutações na estrutura tridimensional deste fator para, assim, perceber a patogénese das doenças trombóticas e hemorrágicas. Só assim será possível melhorar os diagnósticos e implementar terapias adequadas para estas doenças (Fang *et al.*, 2007).

f) Fator IXa

O fator IX apresenta um papel fundamental na coagulação sanguínea uma vez que a sua ausência ou deficiência na sua atividade resulta em hemofilia B.

Este fator plaquetário pode ser convertido na sua forma ativa tanto pela ação do complexo FT/f VIIa como pelo f XIa, ambos na presença de cálcio. Estes fatores

promovem a posterior conversão do fator X na sua forma ativa que, por sua vez, contribuirá para a formação de trombina.

A hemofilia B resulta de uma determinada mutação no gene codificante do fator IX. Esta mutação leva à troca de ácido glutâmico por valina, o que tem como consequência a diminuição da capacidade de complexação entre o f IXa e o f VIIIa, reduzindo a posterior conversão do fator X na sua forma ativa. Como tal, a consequente formação de trombina também fica afetada por esta alteração do no gene codificante do fator IX (Schmidt & Bajaj, 2003).

Assim, existem alguns estudos relativos à associação entre os fatores IX, XI e as DCVs. Um desses estudos reportou que pacientes com síndromes coronárias agudas revelaram níveis elevados de fator IX e XI comparativamente a pacientes com angina estável. No estudo de *Northwick Park Heart* o f IXa foi positivamente associado a DCVs, embora uma vez mais, este resultado não seja significativo após fazer o ajuste para outros fatores de risco cardiovasculares. Contudo, estas análises sugerem que o f IXa poderá ter um importante papel fisiopatológico relacionado com a trombogenicidade (Saigo *et al.*, 2004).

g) Fator Xa

O fator de coagulação X apresenta a função fundamental de regular a coagulação sanguínea pela conversão da protrombina em trombina. É o fator X que ocupa uma posição central na cascata de coagulação como ponto de conversão entre a via intrínseca e a via extrínseca. O seu papel central na regulação da hemóstase é bem estabelecida e demonstrada pelas severas hemorragias cujos pacientes com deficiência deste fator apresentam (Borensztajn *et al.*, 2008).

Estudos mais recentes sugerem que a família de recetores de ativação de protéases (PARs) são os principais recetores envolvidos na sinalização do f Xa e dependem do tipo de células e dos cofatores envolvidos. Assim, verificou-se que enquanto o PAR-1 e o PAR-2 são mediadores da sinalização do f Xa nas células endoteliais, o PAR-1 é o maior mediador dos fibroblastos.

A descoberta destes recetores foi importante uma vez que se confirmou a sua participação na sinalização de processos inflamatórios, tal como a participação do f Xa na indução de respostas pró-inflamatórias. Ou seja, tal como a trombina, também o f Xa induz a secreção de uma série de citocinas pró-inflamatórias através de uma variedade de células.

Assim, após a obtenção de resultados evidentes que demonstraram a contribuição do PAR-1 na remodelação tecidual, através de um efeito mitótico numa variedade de células incluindo fibroblastos, células endoteliais e células do músculo liso, também o f Xa tem sido mencionado pela sua participação na indução de respostas mitóticas neste tipo de células, após ativação do PAR-1.

Ou seja, uma coagulação descontrolada e a sinalização de PARs, independentemente da geração de trombina, contribuem para a fisiopatologia de diversas condições, tanto no processo inflamatório como na remodelação tecidual, incluindo trombose, artrite, cancro, doença renal e lesão pulmonar aguda e crónica (Krupiczojc *et al.*, 2008).

h) Trombina

A trombina participa na ativação de plaquetas, na conversão do fibrinogénio em fibrina e na ativação do fator XIII que, por sua vez, estabiliza o coágulo de fibrina. Também exerce uma função fundamental na amplificação da cascata de coagulação através da ativação dos fatores VIII e V e seus cofatores que promovem a ativação do fator X. Este, posteriormente, promove uma nova conversão de protrombina em trombina.

A trombina é então responsável pela ativação plaquetária que promove o crescimento do trombo. Para além das plaquetas, a trombina estimula a proliferação das células do músculo liso e é responsável pela síntese de citocinas inflamatórias que contribuem para o processo inflamatório atraindo monócitos ao endotélio danificado. Assim, a geração de trombina é importante tanto na progressão crónica da doença aterosclerótica como na sua conversão em eventos agudos (Pothula *et al.*, 2000).

Uma formação exagerada de trombina plasmática induz um maior risco de trombose venosa tanto devido a uma deficiência de AT III, proteína C ou proteína S, como por um excesso de protrombina ou fibrinogénio.

Uma trombose arterial não é tao evidente como a trombose venosa face a uma elevada geração de trombina, no entanto níveis elevados desta proteína foram associados ao aumento de risco de AVC em mulheres, sem se verificar qualquer correlação com doença arterial coronária.

Assim sendo, após várias observações nas quais foram implementadas medidas preventivas e terapia farmacológica adequada, verificou-se uma diminuição da génese de trombina e consecutivamente uma redução nos números de trombose venosa (Dieri *et al.*, 2012).

i) Fibrinogénio

Os coágulos de fibrina são formados a partir do fibrinogénio, uma glicoproteína com três cadeias polipeptídicas ligadas entre si através de pontes dissulfeto. Quando a trombina se liga ao fibrinogénio, promove a clivagem desta glicoproteína seguida da formação de ligações cruzadas entre os seus monómeros, de modo a formar o coágulo de fibrina. Posteriormente, a trombina promove a ativação do fator XIII, que é responsável pela estabilização do coágulo através da implementação de ligações cruzadas entre as moléculas vizinhas de fibrina protegendo o coágulo de lise.

A estabilização final do coágulo de fibrina é essencial na determinação do risco de aterosclerose.

Alguns polimorfismos genéticos do fibrinogénio parecem influenciar os níveis desta glicoproteína e deste modo aumentar o risco cardiovascular. Alguns dos polimorfismos referenciados são substituições entre bases azotadas, por exemplo a substituição de uma adenina por uma guanina ou de uma citosina por uma timina, que levam ao aumento dos níveis de fibrinogénio. Contudo, a relação entre os polimorfismos genéticos do fibrinogénio, conseqüente aumento dos seus níveis plasmáticos e a sua contribuição

para o desenvolvimento de DCVs continua a ser base de discussão entre a comunidade científica.

Por outro lado, indivíduos com DM do tipo 1 ou 2 apresentaram níveis elevados de fibrinogénio, o que poderá contribuir para o aumento do risco cardiovascular em indivíduos diabéticos (Ajjan & Grant, 2006).

j) Fator XIIIa

O fator XIII está presente na circulação plasmática e necessita de estabelecer uma ligação com a trombina para se converter no seu estado ativo. Circula sob a forma de uma molécula tetramérica composta por quatro subunidades: duas subunidades A e duas subunidades B. Após o estabelecimento da ligação entre o fator XIII e a trombina sendo convertido na sua forma ativa, as duas subunidades B dissociam-se das subunidades A. Estas serão as subunidades do fator XIII que se irão ligar ao coágulo de fibrina.

Foram descobertos cinco polimorfismos ao nível da subunidade A do fator XIII, sendo a mudança de valina por uma de leucina o polimorfismo mais importante. Este polimorfismo apresenta alguma variância entre etnias, sendo relativamente comum nos caucasianos. Posto isto, a presença do alelo de leucina demonstrou oferecer proteção para aterotrombose, apesar da existência de alguns estudos que contrariam este dado. Paradoxalmente, estudos *in vitro* demonstraram que esta variante aumenta a atividade catalítica do fator XIII, resultando na formação de coágulos de fibrina, uma estrutura consistente com potencial trombogénico.

DM, hipertensão e o tabaco são fatores que demonstraram estar associados a um aumento dos valores das subunidades A do fator XIII (Ajjan & Grant, 2006).

k) Fator XIIa e Fator XIa

Relativamente ao fator XII e ao fator XI, que fazem parte da ativação da via intrínseca da cascata de coagulação, os resultados não são conclusivos relativamente à sua contribuição cardiovascular.

A deficiência do fator XII não está associada a um estado de hemorragia, ao contrário do FT. Assim sendo, pensa-se que o fator XII não é essencial para a hemóstase se os níveis de FT se mantiverem normais. Contudo, outros dados sugerem que o fator XII está associado ao desenvolvimento do coágulo, contribuindo para o desenvolvimento de trombos, embora o mecanismo pelo qual este atua ainda não esteja completamente esclarecido.

É de ressaltar que não existem dados suficientes que comprovem que o fator XII participa na ativação de trombos em desenvolvimento ou já desenvolvidos (Stavrou & Schmaier, 2010).

Por outro lado, a deficiência do fator XI parece estar relacionada com um elevado risco de hemorragia, contrariamente ao fator XII. Significa assim, que a ativação do fator XI por intermédio da trombina apresenta maior relevância, uma vez que a trombina está envolvida na amplificação da cascata de coagulação e, neste caso, é o FT que desempenha o papel essencial na iniciação da cascata.

Alguns estudos reportam que valores elevados de fator XI estão relacionados com um risco de tromboembolismo venoso, enquanto a sua deficiência demonstrou efeitos protetores contra desordens trombóticas. Estes factos indicam que através da implementação de terapia farmacológica capaz de inibir este fator, poderá ser possível prevenir desordens trombóticas. Contudo é fundamental a realização de análises de modo a avaliar a razão entre os benefícios e os riscos associados à terapêutica (He *et al.*, 2012).

III. Conclusão

As DCVs são uma das principais causas de elevada prevalência de mortalidade e morbidade em todo o mundo. A aterosclerose, enfarte do miocárdio, AVC ou insuficiência cardíaca são os exemplos mais comuns de eventos cardiovasculares fatais, ou não-fatais e respetivas morbidades a elas associadas.

A origem das DCVs pode estar relacionada com fatores genéticos ou, na maioria das vezes, a fatores modificáveis como a DM, hipertensão arterial, colesterol, tabaco, um estilo de vida sedentário, entre outros. Estes fatores designam-se como fatores modificáveis pois através da implementação de medidas preventivas, é possível reduzir a sua incidência e sequencialmente reduzir o risco de desenvolvimento de DCVs. Através de alterações no estilo de vida, como a aquisição de uma dieta equilibrada e saudável, a prática de exercício físico, a minimização do consumo excessivo de álcool ou o hábito tabagista, são algumas das medidas que devem ser adotadas por indivíduos com risco elevado de DCVs.

Por outro lado, os fatores genéticos são fatores já inerentes ao indivíduo. A idade, o género e história familiar positiva para uma determinada doença são fatores não-modificáveis como o próprio nome indica, e são doenças sujeitas a terapia farmacológica para minimizar os seus efeitos e sintomas.

Sendo as DCVs e as doenças cerebrovasculares as doenças que têm como base a aterosclerose, faz todo o sentido analisar e perceber o mecanismo pelo qual esta se desenvolve e quais os fatores que estão envolvidos na sua pregressão. Só assim será possível aplicar estratégias de combate ao desenvolvimento da aterosclerose.

Assim sendo, as plaquetas e os fatores plaquetários, que participam ativamente na cascata de coagulação e na manutenção da hemóstase, são os fatores responsáveis pela formação de trombos, após rutura da integridade do endotélio vascular, de modo a diminuir a perda de sangue e hemorragias descontroladas. Como em qualquer processo, é necessário um mecanismo de regulação para bloquear o processo e contrabalançar os efeitos pró-coagulantes.

Através deste trabalho é possível verificar que uma desordem quantitativa, quer seja por defeito ou por excesso, ou uma desordem funcional na atividade de algum dos fatores

plaquetários, demonstraram influenciar o normal funcionamento da cascata de coagulação que, geralmente, resulta numa atividade exacerbada da produção e progressão dos coágulos sanguíneos.

Como é possível verificar, como resultado de alterações genéticas e consequente diminuição de atividade do respetivo fator plaquetário, os fatores FvW, FT, f VIIa, a trombina e o fibrinogénio são os que mais influenciam a atividade da cascata de coagulação, devido a alterações genómicas e consequente diminuição de atividade.

Sobre a possível relação entre os fatores plaquetários e qual o efeito que exercem sobre as DCVs denota-se que alguns estudos ainda são inconclusivos. Em muitos estudos, este problema encontra-se relacionado com a dificuldade de selecionar um grupo de estudo ideal com um número significativo de indivíduos, de controlar as variáveis que dentro desse mesmo grupo possam existir, de escolher os métodos utilizados para a quantificação e análise de dados assim como a própria interpretação dos resultados obtidos.

Assim, ainda existe uma grande dificuldade em compreender o mecanismo pelo qual certos fatores exercem determinadas funções ao nível do sistema cardiovascular, e em que medida afetam negativamente o desenvolvimento ou a progressão da doença. Existe ainda um longo percurso a percorrer, pois só assim será possível adaptar melhores medidas preventivas, melhores terapias farmacológicas e a sua farmacovigilância, de forma a educar a população para a saúde e promover a saúde em Portugal.

IV. Bibliografia

Ajjan, R. & Grant, P. (2006). Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186(2), pp. 240-259.

Allford, S. & Machin, S. (2007). Haemostasis. *Surgery*, 25(6), pp. 241-244.

Archer, E. & Blair, S.N. (2011). Physical Activity and the Prevention of Cardiovascular Disease: From Evolution to Epidemiology. *Progress in Cardiovascular Disease*, 53(6), pp. 387-396.

Becker, R. (2005). Understanding the dynamics of thrombin in cardiovascular disease: Pathobiology and biochemistry for the clinician. *American Heart Journal*, 149, pp. 1-8.

Borensztajn, K., Peppelenbosch, M. & Spek, C. (2008). Factor Xa: at the crossroads between coagulation and signaling in physiology and disease. *Trends in Molecular Medicine*, 14(10), 429-440.

Burns, D. (2003). Epidemiology of Smoking-Induced Cardiovascular Disease. *Progress in Cardiovascular Disease*, 46, pp. 11-29.

Cannon, C. (2007). Cardiovascular Disease and Modifiable Cardiometabolic Risk Factors. *Clinical Cornerstone*. 8(3), pp. 11-28.

Cardoso, I. (2009). Homocisteína e a doença cardiovascular. *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*. Edições Universidade Fernando Pessoa, 6, pp. 198-206.

Cordero, A., Bertomeu-Martínez, V., Mazón, P., Fácila, L., Bertomeu-González, V., Cosín, J., Galve, E., Núñez, J., Lekuona, I. & González-Juanatey, J. (2011). Factors Associated With Uncontrolled Hypertension in Patients With and Without Cardiovascular Disease. *Revista Española de Cardiología*, 64(7), pp. 587-593.

Dieri, R., Laat, B. & Hemker, C. (2012). Thrombin generation: What have we learned?. *Blood Reviews*, 26(5), pp. 197-203.

Direcção Geral da Saúde (2004). Plano Nacional de Saúde 2004/2010. Ministério da Saúde. [Em Linha]. Disponível em <http://www.dgsaude.min-saude.pt/pns/media/pns_vol2.pdf>. Consultado em 1 de Fevereiro de 2012.

Duga, S., Asselta, R. & Tenchini, M. (2004). Coagulation factor V. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(8), pp. 1393-1399.

Eichner J., Dunn S., Perveen G., Thompson D., Stewart K. & Stroehla B. (2002). Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *American Journal of Epidemiology*, 155(6), pp. 487-495.

Eisenreich, A. & Rauch, U. (2010). Regulation and Differential Role of the Tissue Factor Isoforms in Cardiovascular Biology. *Trends Cardiovascular Medical*, 20(6), pp. 199-203.

Erqou, S., Thompson, A., Angelantonio, E., Saleheen, D., Kaptoge, S., Marcovina, S. & Danesh, J. (2010). Apolipoprotein(a) Isoforms and the Risk of Vascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(19), pp. 2160-2167.

Eyre, L. & Gamlin, F. (2010). Haemostasis, blood platelets and coagulation. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 11(6), pp. 244-246.

Fang, H., Wang, L. & Wang, H. (2007). The protein structure and effect of factor VIII. *Thrombosis Research*, 119, pp. 1-13.

Forti, N. & Diament, J. (2007). Apolipoproteínas B e A-I: Fatores de Risco Cardiovascular?. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 53(3), pp. 276-282.

Franco, R. (2001). Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. *Medicina, Ribeirão Preto*, 34, pp. 229-237.

Fuchs, B., Budde, U., Schulz, A., Kessler, C., Fisseau, C. & Kannicht, C. (2010). Flow-based measurements of von Willebrand factor (VWF) function: Binding to collagen and platelet adhesion under physiological shear rate. *Thrombosis Research*, 125(3), pp. 239-245.

Galen, K., Tuinenburg, A., Smeets, E. & Schutgens, R. (2012). Von Willebrand factor deficiency and atherosclerosis. *Blood Reviews*, 26(5), pp. 189-196.

Girard, T. & Nicholson, N. (2001). The role of tissue factor/factor VIIa in the pathophysiology of acute thrombotic formation. *Current Opinion in Pharmacology*, 1(2), pp. 159-163.

Gorbet, M. & Sefton, M. (2004). Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes, *Biomaterials*, 25(26), pp. 5681-5703.

Grammer, T., Hoffmann, M., Renner, W., Kleber, M., Winkelmann, B., Böhm, B. & März, W. (2011). Apolipoprotein E genotypes, circulating C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study, *Atherosclerosis*, 215(2), pp. 487-493.

He, R., Chen, D. & He, S. (2012). Factor XI: Hemostasis, Thrombosis, and Antithrombosis. *Thrombosis Research*, 129(5), pp. 541-550.

Hersberger, M. (2011). Dyslipidemias in children and adolescents. *Clinical Biochemistry*, 44(7), pp.507-508.

Hunt, S., Gwinn, M. & Adams, T. (2003). Family History Assessment. Strategies for Prevention of Cardiovascular Disease. *American Journal of Preventive Medicine*, 24(2), pp. 136-142.

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2007). 4º Inquérito Nacional de Saúde - 2005/2006. [Em Linha]. Disponível em

<http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=6449883&DESTAQUESmodo=2>. Consultado em 24 de Janeiro de 2012.

João, C. (2001). Doença de von Willebrand. *Medicina Interna*, 8, pp. 28-36.

Johari, V. & Loke, C. (2012). Brief Overview of the Coagulation Cascade. *Disease-a-Month*, 58(8), pp. 421-423.

Kengne, A., Turnbull, F. & MacMahon, S. (2010). The Framingham Study, Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease: Turning Back the Clock. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 53, pp. 45-51.

Kraja, A., Hunt, S., Rao, D., Dávilla-Román, V., Arnett, D. & Province, M. (2011). Genetics of Hypertension and Cardiovascular Disease and Their Interconnected Pathways: Lessons from Large Studies. *Current Hypertension Reports*, 13, pp.46-54.

Krupiczkoj, M., Scotton, C. & Chambers, R. (2008). Coagulation signalling following tissue injury: Focus on the role of factor Xa. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(6), pp. 1228-1237.

Kuzuya, T., Nakagawa, S., Satoh, J., Kanazawa, Y., Iwamoto, Y., Kobayashi, M., Nanjo, K., Sasaki, A., Seino, Y., Ito, C., Shima, K., Nonaka, K. & Kadowaki, T. (2002). Report of the Committee on the classification and diagnostic criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 55, pp. 65-85.

Lavie, C., Milani, R. & Ventura, H. (2009). Obesity and Cardiovascular Disease: Risk Factor, Paradox, and Impact of Weight Loss. *Journal of the American College of Cardiology*, 53(21), pp. 1925-1932.

Mabuchi, H., Higashikata, T. & Kawashiri, M. (2004). Clinical applications of long-term LDL-apheresis on and beyond refractory hypercholesterolemia. *Transfusion and Apheresis Science*, 30(3), pp.233-243.

Malinowska, A. & Chmurzynska, A. (2009). Polymorphism of genes encoding homocysteine metabolism-related enzymes and risk for cardiovascular disease. *Nutrition Research*, 29(10), pp. 685-695.

Merkel, M. (2004). Homocysteine as a risk factor of cardiovascular disease. *International Congress Series*, 1276, pp.376-379.

Minors, D. (2007). Haemostasis, blood platelets and coagulation, *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 8 (5), pp. 214-216.

O'Donnell, C.J. & Elosua, R. (2008). Cardiovascular Risk Factors. Insights from Framingham Heart Study. *Revista Española de Cardiología*, 61(3), pp. 299-310.

Perdigão, C. Rocha, E., Duarte, J. Santos, A. & Macedo, A. (2011). Prevalence and distribution of the main cardiovascular risk factors in Portugal-the AMALIA study. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 30(4), pp.393-432.

Perelman, J., Mateus, C. & Fernandes, A. (2010). Gender equity in treatment for cardiac heart disease in Portugal. *Social Science & Medicine*, 71, pp. 25-29.

Pérez, A. (2008). Exercise as the Cornerstone of Cardiovascular Prevention. *Revista Española de Cardiología*, 61(5), pp. 514-528.

Pimanda, J. & Hogg, P. (2002). Control of von Willebrand factor multimer size and implications for disease. *Blood Reviews*, 16(3), pp. 185-192.

Pothula, A., Serebruanya, V., Gurbel, P., McKenzie, M. & Atarb, D. (2000). Pathophysiology and therapeutic modification of thrombin generation in patients with coronary artery disease. *European Journal of Pharmacology*, 402, pp. 1-10.

Precioso, J., Calheiros, J., Pereira, D., Campos, H., Antunes, H., Rebelo, L. & Bonito, J. (2009). Estado actual e evolução da epidemia tabágica. Em Portugal e na Europa. *Acta Médica Portuguesa*, 22(4), pp.335-348.

Rao, L. & Mackman, N. (2010). Factor VIIa and tissue factor – from cell biology to animal models. *Thrombosis Research*, 125, pp. 1-3.

Saigo, M., Hsue, P. & Waters, D. (2004). Role of Thrombotic and Fibrinolytic Factors in Acute Coronary Syndromes. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 46(6), pp. 524-538.

Schmidt, A. & Bajaj, S. (2003). Structure–Function Relationships in Factor IX and Factor IXa. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 13, pp. 39-45.

Silveira, A., Scanavini, D., Boquist, S., Ericsson, C., Hellênus, M., Leander, K., Faire, U., Öhrvik, J., Woodhams, B., Morrissey, J. & Hamsten, A. (2012). Relationship of plasma factor VIIa-antithrombin complexes to manifest and future cardiovascular disease. *Thrombosis Research*, 130(2), pp. 221-225.

Simioni, P. & Spiezia, L. (2011). Factor VIIa-AT complex plasma levels and arterial thrombosis. *Thrombosis Research*, 128, p. 507.

Sobczak, A., Szoltysek-Boldys, I. & Zielinska-Danch, W. (2008). Relationship between tobacco, smoke and novel risk factors for cardiovascular disease. *Toxicology Letters*, 180(5), p. 201.

Stavrou, E. & Schmaier, A. (2010). Factor XII: What does it contribute to our understanding of the physiology and pathophysiology of hemostasis & thrombosis. *Thrombosis Research*, 125(3), pp. 210-215.

Tousoulis, D., Paroutoglou, I., Papageorgiou, N., Charakida, M. & Stefanadis, C. (2010). Recent therapeutic approaches to platelet activation in coronary artery disease. *Pharmacology & Therapeutics*, 127(2), pp. 108-120.

Tremoli, E., Camera, M., Toschi, V. & Colli, S. (1999). Tissue factor in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 144(2), pp. 273-283.

Tuomilehto, J. (2004). Impact of age on cardiovascular risk: implications for cardiovascular disease management. *Atherosclerosis Supplements*, 5(2), pp. 9-17.

Viles-Gonzalez, J. & Badimon, J. (2004). Atherothrombosis: the role of tissue factor. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36, pp. 25-30.

Williams R., Hunt S., Heiss G., Province, M., Bensen, J., Higgins, M., Chamberlain, R., Ware, J. & Hopkins, P. (2001). Usefulness of cardiovascular family history data for population-based preventive medicine and medical research (the Health Family Tree Study and the NHLBI Family Heart Study). *American Journal of Cardiology*, 87(2), pp. 129–135.

World Health Organization. Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. [Em Linha]. Disponível em <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf>. Consultado em 12 de Dezembro de 2011.

World Health Organization. About Diabetes. [Em Linha]. Disponível em <http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/index.html>. Consultado em 18 de Janeiro de 2012.