

CAPÍTULO 10

O PAPEL DO FIBRINOGÊNIO E SEU ENVOLVIMENTO NAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Ana Beatriz Monteiro de Vasconcellos;
Andrezza de Oliveira Mendes;
Carlos Otávio Magaldi Filho;
Gustavo Mello Gomes de Matos;
Henrique Heber Sousa Júnior;
Lenny Gabriela Giese Urresti;
Luana Francisca Gonchorek de Paula;
Patrícia Neves Ximenes;
Taís Neves Noujaim Miotto.

RESUMO

O fibrinogênio é uma proteína plasmática crucial na cascata de coagulação sanguínea, desempenhando um papel fundamental na formação de coágulos. No contexto das doenças cardiovasculares, o fibrinogênio tem sido alvo de extenso estudo devido à sua associação com o desenvolvimento e progressão de diversas patologias do sistema cardiovascular. Estudos epidemiológicos têm consistentemente demonstrado uma relação entre níveis elevados de fibrinogênio e um maior risco de doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose, doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral e doença arterial periférica. O fibrinogênio pode promover a formação de trombos, contribuindo para a obstrução de vasos sanguíneos e eventos cardiovasculares adversos. Além do seu papel na coagulação, o fibrinogênio também está envolvido em processos inflamatórios e na regulação da função endotelial, o que pode influenciar diretamente a progressão das doenças cardiovasculares. Mecanismos moleculares subjacentes têm sido explorados, revelando interações complexas entre o fibrinogênio e componentes celulares, citocinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento. Intervenções terapêuticas visando reduzir os níveis de fibrinogênio ou modular sua atividade estão sendo investigadas como estratégias potenciais para prevenir ou tratar doenças cardiovasculares. Além disso, o fibrinogênio tem sido considerado como um biomarcador útil para avaliar o risco cardiovascular e monitorar a eficácia de intervenções terapêuticas.

Palavras-chave: Fibrinogênio. Doenças cardiovasculares. Coagulação sanguínea. Plaquetas Sanguíneas. Hemostasia

1. FIBRINO GênIO E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

As doenças cardiovasculares (DCV) – que compreendem, entre outras, a doença arterial coronariana (DAC), insuficiência cardíaca (IC), o acidente vascular cerebral (AVC) e hipertensão – continuam sendo a principal causa de mortalidade e hospitalização em todo o mundo. Com base nos dados da National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), a prevalência de DCV, somente nos Estados Unidos, em indivíduos com mais de 20 anos de idade é de 49,2% e de 9,3% excluindo hipertensão. A prevalência de DCV aumenta com a idade, de cerca de 1% da população com idade entre 20 e 39 anos até 42,9% dos homens e 31,3% das mulheres com idade ≥ 80 anos, excluindo hipertensão. A principal causa de morte por DCV em 2019 foi a DAC, responsável por 41,3% das mortes, seguida por AVC (17,2%), hipertensão arterial (11,7%), IC (9,9%) e doenças arteriais (2,8%)¹.

A aterosclerose está subjacente na grande maioria das DCV. A inflamação sistêmica crônica de baixo grau é considerada um fator crítico associado à DCV, com envolvimento de senescência celular, deposição de detritos celulares, composição do microbioma e hematopoiese clonal de potencial indeterminado, componentes genéticos e epigenéticos². Estudos relacionam níveis aumentados de fibrinogênio, refletindo o efeito da inflamação crônica, com risco aumentado de doença coronariana e AVC^{3,4}, enquanto um estudo de randomização mendeliana não revelou nenhum efeito causal do fibrinogênio na DCV⁵.

A conversão do fibrinogênio circulante em fibrina insolúvel e a formação de um coágulo estável é a etapa final da cascata de coagulação, refletindo a capacidade natural do organismo de parar o sangramento após uma lesão. O fibrinogênio, sintetizado no fígado, circula no sangue em concentrações de 2–4 g/L. O fibrinogênio humano é uma glicoproteína de 340 kDa composta por três cadeias polipeptídicas emparelhadas $A\alpha$, $B\beta$ e γ . As seis subunidades são mantidas juntas por 29 ligações dissulfeto no nódulo central da molécula de fibrinogênio⁶.

O fibrinogênio é composto por 3 regiões principais, conectadas por bobinas α -helicoidais, incluindo uma região E central contendo os terminais N de todas as cadeias polipeptídicas e duas regiões D externas que compreendem os terminais C das cadeias $B\beta$ e γ . A região C-terminal da cadeia $A\alpha$ forma uma estrutura globular localizada próxima à região E central. A trombina cliva especificamente 2 fibrinopeptídeos A (FpA) dos terminais N das cadeias $A\alpha$ do fibrinogênio, resultando na formação do monômero desA-fibrina com locais de ligação expostos⁶.

A liberação de fibrinopeptídeos B (FpB) dos terminais N das cadeias $B\beta$ não é necessária para a polimerização da fibrina e ocorre a uma taxa mais lenta. Os monômeros de fibrina polimerizam por meio de interações não covalentes entre as regiões D e E, com subsequente agregação lateral

promovida, principalmente, por interações de cadeias α - α e cadeias α - γ . Uma fibrina meio escalonada forma uma protofibrila torcida. A agregação lateral de oligômeros de fibrina de fita dupla (protofibrilas de 20 a 25 mer) e a formação de fibras de fibrina mais espessas estão provavelmente associadas à liberação de FpB. Porém, este mecanismo não foi totalmente compreendido. A ramificação é estritamente necessária para a formação de uma estrutura tridimensional de fibrina e geralmente um maior número de pontos de ramificação está associado a segmentos de fibra mais curtos entre eles⁶. Importante notar que a fibrina tem uma extensibilidade única e fibras individuais podem ser alongadas em 300 a 400% antes da ruptura⁷.

A resistência da fibrina à degradação pela plasmina é determinada principalmente pela reticulação covalente, mediada pelo fator ativado (F) XIII, que catalisa a formação de ligações covalentes entre as cadeias γ - γ , γ - α e α - α ⁶. Os ativadores do plasminogênio do tipo tecidual e da uroquinase (tPA e uPA) convertem o plasminogênio em plasmina, sendo esse processo controlado pelo inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1). A liberação aprimorada de PAI-1 de plaquetas, endotélio, hepatócitos e adipócitos inibe diretamente a conversão de plasminogênio em plasmina no sangue circulante. Níveis aumentados de PAI-1 ocorrem nas DCV⁸. Em meta-análise dos estudos disponíveis, os níveis de antígeno PAI-1, mas não a atividade, foram maiores em 6,11 ng/mL em pacientes com eventos cardíacos adversos do que em controles⁹.

A eficiência catalítica da ativação do plasminogênio pelo tPA, mas não pelo uPA, é maior na presença de fibrina como um complexo ternário do que na presença de fibrinogênio. O tPA se liga à fibrina por um domínio de dedo, seguido por uma alteração conformacional que facilita a ligação ao plasminogênio¹⁰. O aumento da incorporação de proteínas antifibrinolíticas na malha de fibrina, como α 2-antiplasmina, PAI-2, TAFI ou componente C3 do complemento, leva à hipofibrinólise por meio de diferentes mecanismos. α 2-Antiplasmina e PAI-2 estão reticulados à fibrina e inibem diretamente a plasmina ou o tPA, respectivamente. Ativado pela trombomodulina, o TAFI cliva os resíduos de lisina C-terminais da fibrina, que são necessários para a ligação do tPA e do plasminogênio¹¹.

Os dados que indicam associações entre níveis mais elevados de fibrinogênio e aumento do risco de DCV são inconsistentes. Porém, o fibrinogênio continua sendo um biomarcador valioso usado na prática clínica de rotina. Há mais de 30 anos foi considerado que não o fibrinogênio em si, mas a estrutura e função do coágulo de fibrina estão envolvidas no desenvolvimento, progressão e manifestações trombóticas da DCV¹².

2. DESCOBERTA DO SISTEMA FIBRINOLÍTICO

No século 18, o anatomista e médico italiano Giovanni Battista Morgagni observou que, em alguns casos, o sangue não coagulava após a morte súbita. Em 1861, Denis descreveu a dissolução espontânea do coágulo post mortem em pacientes com trauma¹³. No final do século 19, foi verificado

que a fibrina dissolvida não conseguia coagular novamente, apesar da adição de trombina. Isso indicou que a quebra do coágulo de fibrina era resultado da digestão enzimática¹⁴. Em 1889, Denys & De Marbaix notaram a existência de uma enzima dormente, que poderia dissolver coágulos sanguíneos, sendo o termo fibrinólise possivelmente usado pela primeira vez por Dastre, em 1893¹⁵.

Os mecanismos exatos por trás da fibrinólise e da regulação do processo ainda eram desconhecidos, mas na primeira metade do século 20 houve um aumento na pesquisa sobre o sistema fibrinolítico, incluindo o desenvolvimento e refinamento de técnicas laboratoriais. Gradualmente, os diferentes componentes do sistema fibrinolítico foram elucidados. Tornou-se evidente que uma enzima adormecida – hoje conhecida como zimogênio – circulava no plasma e poderia ser ativada por diferentes substâncias¹³. Os termos plasminogênio e plasmina foram propostos por Christensen & MacLeod¹⁶, em 1945, rapidamente adotados.

Também foi reconhecido que o plasma continha um ou mais inibidores da atividade fibrinolítica e que esse efeito inibitório poderia ser inativado por substâncias como o clorofórmio ou aliviado por meio do fracionamento do plasma. Em 1948, um artigo publicado por MacFarlane & Biggs¹⁵ resumiu o conhecimento mais avançado do sistema fibrinolítico na época, estabelecendo a plasmina como a principal enzima fibrinolítica, presente na forma de zimogênio na fração globulina do plasma e antiplasmina – atualmente conhecida como α 2-antiplasmina – como principal inibidor da fibrinólise, encontrada na fração albumina.

Era bem conhecido que os coágulos de fibrina se dissolveriam em condições fisiológicas caso fossem deixados em repouso, embora lentamente, indicando atividade espontânea da plasmina. Algumas condições, no entanto, podem induzir um aumento pronunciado na atividade da plasmina, por exemplo, trauma, cirurgia, choque e morte súbita. Considerou-se que a liberação de uma quinase – ou ativador do plasminogênio – na corrente sanguínea estava envolvida, e a fonte foi muito procurada desde o início de 1900, com extensas investigações sobre a atividade fibrinolítica de diferentes tecidos¹⁵.

Em 1952, Astrup & Stage¹⁷ conseguiram extrair a fibrinocinina do tecido cardíaco suíno na forma solúvel em água. Foi descoberto mais tarde que o ativador do plasminogênio tecidual (tPA) é sintetizado no endotélio e liberado após estimulação endotelial, estando, portanto, está presente nos tecidos de todo o organismo. Foi também reconhecida a existência de outros inibidores da fibrinólise, além da antiplasmina, e que possivelmente exerciam seus efeitos antifibrinolíticos por meio da inibição do ativador do plasminogênio^{12,13}. Porém, foi somente na década de 1980, quando ensaios específicos e técnicas de clonagem se tornaram disponíveis, que os inibidores do ativador do plasminogênio 1 e 2 (PAI-1 e PAI-2) foram caracterizados¹³.

O interesse em ativadores extrínsecos do plasminogênio cresceu após a observação de Tillett e Garner, na década de 1930, de que as culturas estreptocócicas continham um ativador de fibrinólise, que parecia funcionar por meio da ativação do plasminogênio, mais tarde denominada estreptoquinase²⁰. Em 1949, a terapia trombolítica com estreptoquinase foi utilizada pela primeira vez para o tratamento de aderências pleurais²¹. Nas décadas seguintes, muitos estudos sobre o uso de estreptoquinase foram realizados, assim como da uroquinase e tPA para a dissolução de trombos intravasculares em, por exemplo, infarto do miocárdio (IM), embolia pulmonar e doença arterial periférica. Embora a trombólise tenha sido amplamente substituída pelo implante de stent coronário percutâneo primário (ICP) no IM, a trombólise com tPA recombinante ainda é usada para o tratamento de embolia pulmonar e no tratamento de AVC onde o efeito benéfico na mortalidade e no resultado funcional após o AVC foi estabelecido^{22,23}.

A atividade fibrinolítica na urina foi descrita em 1947¹⁵, levando à descoberta de outro ativador do plasminogênio, inicialmente denominado uroquinase ou ativador do plasminogênio tipo uroquinase (uPA), presente não apenas na urina, mas também no sangue e na matriz extracelular¹³. Foi também descoberto que o uPA poderia induzir a migração celular e a degradação dos tecidos, enquanto o receptor uPA ligado às células (uPAR) foi descrito e caracterizado na década de 1980²⁴. Durante a inflamação, o uPAR é eliminado da superfície celular e circula na forma solúvel (suPAR).

Desde sua descoberta no início da década de 1990²⁵, o potencial do suPAR como biomarcador diagnóstico e prognóstico tem sido utilizado em várias condições clínicas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, sepse e doença renal aguda e crônica²⁶. Foi discutido se o suPAR é apenas um marcador de ativação imunológica ou se desempenha um papel ativo nos processos fisiopatológicos. Porém, foi documentado que se trata de um eliminador de uPA circulante, sendo um quimiotaxante para neutrófilos. Assim, poderia ser um futuro alvo de tratamento em uma série de condições inflamatórias²⁷.

Conforme os estudos moleculares sobre o plasminogênio e a plasmina foram realizados utilizando técnicas mais recentes, a lista de substratos conhecidos para a plasmina se expandiu. Hoje, sabe-se que a plasmina cliva não só a fibrina, mas também uma série de proteínas, incluindo fatores de coagulação, hormônios, fatores de crescimento e proteínas da matriz extracelular²⁸. Com isso, foi possível constatar que o sistema fibrinolítico – ou sistema plasminogênio-plasmina – não é apenas um participante importante na trombose e na hemostasia, mas também está envolvido em muitos outros processos, incluindo remodelação tecidual, angiogênese, invasão trofoblástica, desenvolvimento neural e inflamação²⁹.

Esses efeitos são essenciais no crescimento e desenvolvimento fisiológico, mas também podem contribuir para processos fisiopatológicos, como crescimento e invasão tumoral, angioedema ou neovascularização observada, por exemplo, na degeneração macular relacionada à idade³⁰.

3. CONCEITOS ATUAIS

Após a ativação do sistema de coagulação e geração de trombina, a trombina converte o fibrinogênio em fibrina por meio da clivagem dos domínios A e B, permitindo que as moléculas de fibrina polimerizem e formem o coágulo de fibrina insolúvel, que é então estabilizado com a reticulação covalente pelo fator de coagulação XIII. A fibrina reticulada expõe resíduos de lisina, que fornecem uma superfície de ligação para o plasminogênio³¹.

A conversão intravascular de plasminogênio em plasmina é induzida principalmente por tPA. Essa serina protease é ativa, mas sua atividade de conversão de plasminogênio aumenta até 1000 vezes na presença de fibrina, assegurando que, em condições fisiológicas, a atividade intravascular da plasmina seja localizada nos coágulos de fibrina e a ativação disseminada da plasmina evitada³². Por outro lado, a ativação do uPA requer ligação ao seu receptor uPAR, presente nas células do sistema imunológico, células endoteliais, megacariócitos e em outros tecidos, mas não requer colocalização com fibrina, fato que determina a localização da atividade do uPA principalmente nas superfícies celulares³³.

A fibrinólise é regulada por várias proteínas antifibrinolíticas, sendo a $\alpha 2$ -antiplasmina considerada o mais importante inibidor da plasmina. Incorporada no coágulo durante a reticulação da fibrina, a $\alpha 2$ -antiplasmina inibe a plasmina com a formação do complexo plasmina-antiplasmina (PAP)³⁴. Outros reguladores importantes da degradação do coágulo de fibrina são o PAI-1, o PAI-2 e o inibidor da fibrinólise ativável pela trombina (TAFI). Os PAIs são inibidores de serina protease (SERPINS) e exercem seus efeitos antifibrinolíticos com a formação direta de complexos e da inibição de tPA e uPA. O PAI-1 é sintetizado no endotélio e nas plaquetas, sendo o inibidor do ativador do plasminogênio mais abundante in vivo, enquanto o PAI-2 é sintetizado principalmente no tecido placentário e pode estar envolvido na regulação da invasão trofoblástica³⁵.

A carboxipeptidase TAFI é sintetizada no fígado e ativada pela trombina na presença de trombomodulina. A protease ativada (TAFIa) cliva os resíduos de lisina da fibrina e, como os resíduos de lisina são locais de ligação para o plasminogênio, o TAFI compromete a ligação do plasminogênio-fibrina, a ativação do plasminogênio e a degradação da fibrina³⁶. Não são somente as concentrações plasmáticas de proteínas pró e antifibrinolíticas, mas também a própria estrutura do coágulo de fibrina, que influenciam o processo fibrinolítico. As propriedades da rede de fibrina – diâmetro da fibra, densidade e tamanho dos poros – determinam a estabilidade do coágulo e a resistência à lise³⁷.

Essas propriedades são dependentes das concentrações de fibrinogênio e trombina no momento da formação do coágulo. Em baixas concentrações de trombina, o coágulo de fibrina consiste em fibras espessas com uma estrutura frouxa e poros grandes, altamente suscetíveis à fibrinólise.

As concentrações mais altas de trombina, por sua vez, produzem fibras de fibrina mais finas e coágulos de fibrina mais densos com poros menores³⁷.

A estrutura mais densa da fibrina dificulta a difusão do plasminogênio e do tPA, tornando o coágulo mais resistente à lise^{38,39}. Além disso, a ativação aprimorada de FXIII e TAFI pela trombina aumenta a estabilização do coágulo pelo FXIII e diminui a lisabilidade do coágulo com a remoção de resíduos de lisina TAFIa. A concentração plasmática de fibrinogênio também afeta as propriedades do coágulo de fibrina e níveis mais elevados de fibrinogênio resultam em coágulos mais compactos e resistentes à lise⁴⁰. Alterações qualitativas do fibrinogênio, como fosforilação, glicação ou oxidação, podem mudar a estrutura do coágulo, prejudicando a fibrinólise^{41,42}.

4. MEDIÇÃO DA FIBRINÓLISE

Historicamente, os testes de fibrinólise em ambiente clínico têm permanecido muito atrás dos testes de coagulação, especialmente testes sensíveis à redução da capacidade fibrinolítica (hipofibrinólise). Isso ocorre devido a vários motivos. Um deles corresponde ao processo de fibrinólise, que é lento (horas-dias), em comparação ao de coagulação (segundos-minutos). Por isso, é difícil projetar testes com um tempo de resposta clinicamente relevante, que reflitam a fibrinólise *in vivo*. Também é complicado encontrar associações consistentes entre marcadores laboratoriais de fibrinólise e resultados clínicos, devido à falta de padronização intra e interlaboratorial. Nesse caso, as definições de hipo e hiperfibrinólise clinicamente relevantes não são claras⁴³.

Além disso, as opções terapêuticas para modular a fibrinólise têm sido limitadas quando comparadas à variedade de medicamentos anticoagulantes e agentes hemostáticos, reduzindo o interesse pela realização de ensaios para a monitorização da fibrinólise. Porém, vários métodos para medir a fibrinólise estão atualmente disponíveis. O surgimento da turbidez, formação de coágulos e ensaios de lise, ensaios de fluorescência para geração de plasmina, desenvolvimento de métodos de imagem microscópica e, nos últimos anos, modificação de testes viscoelásticos para aumento da sensibilidade à hiper e hipofibrinólise, contribuíram para a pesquisa da fibrinólise e têm promovido uma melhor compreensão da fibrinólise⁴³, conforme descrito a seguir.

4.1 OBSERVAÇÕES E MÉTODOS INICIAIS

As primeiras observações da atividade fibrinolítica se basearam na inspeção visual da formação de coágulos e conseqüente dissolução no sangue total ou plasma. Isso promoveu uma melhor noção funcional da velocidade intrínseca da fibrinólise do paciente, mas não forneceu informações sobre os mecanismos subjacentes e sob condições fisiológicas. Um passo importante foi o desenvolvimento e refinamento das técnicas de placa de fibrina, que utilizavam coágulos de fibrina pré-formados, obtidos pela coagulação de fibrinogênio purificado com trombina em uma placa de Petri

sob condições padronizadas. A amostra foi adicionada à placa e o diâmetro da área lisada foi medido em momentos específicos. A técnica da placa de fibrina permitiu o estudo da atividade fibrinolítica em diferentes frações plasmáticas e extratos de tecidos, facilitou grande parte das pesquisas iniciais sobre o sistema fibrinolítico^{44,45}.

4.2 ENSAIOS DINÂMICOS

4.2.1 Tempo de lise de euglobulina e formação de coágulos baseados em plasma e ensaios de lise

O tempo de lise da euglobulina (TLE), baseado nas primeiras técnicas de placa de fibrina, é realizado até hoje e em diversas formas variantes. Comum aos diferentes métodos, a fração de (eu)globulina é separada do plasma para análise para evitar a influência da α 2-antiplasmina. A fração globulina pode ser adicionada a um coágulo de fibrina pré-formado, ou o próprio fibrinogênio do paciente, contido na fração globulina, pode ser coagulado com trombina. Em ambos os casos, o tempo de lise é posteriormente registrado. Antes, o ensaio era realizado em placas de Petri e com inspeção visual, mas hoje são utilizadas placas de microtitulação, sendo a degradação da fibrina avaliada com leitura contínua automatizada de absorbância. O TLE é sensível à capacidade fibrinolítica do sistema plasminogênio/plasmina-tPA do paciente, porém exclui o efeito das proteínas antifibrinolíticas. Além disso, as técnicas de coágulo de fibrina pré-formado consideram a estrutura de fibrina do próprio paciente e a resistência à lise^{46,47}.

Os ensaios de formação de coágulos e lise realizados no plasma – em oposição à fração de euglobulina – solucionaram alguns desses problemas. O plasma, nesse caso, é coagulado utilizando trombina ou fator tecidual, e a formação e degradação da fibrina são avaliadas medindo as alterações na turbidez plasmática. Como a lise é muito mais lenta no plasma do que na fração globulina devido à presença de inibidores, um ativador de plasminogênio exógeno, por exemplo, tPA recombinante, é adicionado com o ativador de coágulo. Esses ensaios, portanto, não são tão sensíveis à atividade endógena do tPA do paciente como o ELT, mas fornecem uma imagem da capacidade fibrinolítica global, incluindo o efeito dos inibidores da fibrinólise – principalmente para variantes dos ensaios que utilizam fator tecidual em vez de trombina – e a capacidade de coagulação do próprio paciente e da lisabilidade do coágulo de fibrina. Os ensaios de formação de coágulos e lise são para pesquisa, mas são difíceis de padronizar entre laboratórios, pois são altamente sensíveis a reagentes, tampões e equipamentos⁴⁸.

4.2.2 Geração de plasmina

Avaliar a cinética de formação e inibição da plasmina no plasma é outra forma de observar a capacidade fibrinolítica dinâmica do paciente. O ensaio de geração de plasmina foi inspirado no ensaio de geração de trombina e está disponível em diversas variantes. Esses ensaios utilizam um

substrato fluorogênico com alta especificidade para plasmina e medem a fluorescência após a ativação da amostra com fator tecidual e tPA. O sinal fluorescente é convertido em unidades de atividade de plasmina e diferentes variáveis podem ser derivadas da curva de geração de plasmina, como, por exemplo, tempo para formação de plasmina, velocidade, pico de atividade de plasmina, área sob a curva, entre outros, e também da taxa de inibição da plasmina, que corresponde à sensibilidade à α 2-antiplasmina e outros inibidores da plasmina. Porém, assim como o ensaio de formação de coágulos e lise, adiciona-se tPA exógeno para aumentar a fibrinólise, o que torna o ensaio menos sensível ao efeito do tPA endógeno do paciente⁴⁹.

4.2.3 Estrutura do coágulo de fibrina

Além da atividade da plasmina, a estrutura do coágulo de fibrina – ou seja, a espessura da fibra, a densidade da fibrina e o tamanho dos poros – são os principais determinantes do tempo de lise. Pode ser avaliado ao microscópio ou determinado com a medição da permeabilidade do coágulo de fibrina. À medida que as técnicas de imagem microscópica melhoraram e se ficaram mais disponíveis, esse método se tornou valioso para a pesquisa de determinantes da estrutura do coágulo de fibrina, podendo ser aplicado em coágulos gerados a partir de plasma e sangue total⁴². O método de permeabilidade do coágulo de fibrina é realizado coagulando o plasma do paciente com trombina e deixando o tampão fluir pelos coágulos de fibrina formados sob pressão padronizada. A constante de permeabilidade é calculada, sendo proporcional ao tamanho dos poros e inversamente proporcional à densidade do coágulo de fibrina⁴⁸.

4.2.4. Testes viscoelásticos

Os testes viscoelásticos incluem tromboelastografia (TEG®), tromboelastometria rotacional (ROTEM®) e Sonoclot® e são realizados no sangue total. A cinética de formação do coágulo, assim como a quebra do coágulo, é registrada com a medição das alterações nas propriedades viscoelásticas do sangue coagulado, seja como resistência mecânica ou como ondas de ultrassom. Os testes viscoelásticos são utilizados para orientar a estratégia de transfusão no paciente com sangramento⁵⁰. A quebra mecânica do coágulo altera as propriedades viscoelásticas, o que torna essas análises sensíveis à hiperfibrinólise e usadas para orientar o tratamento com agentes antifibrinolíticos⁵¹.

Casos mais leves de hiperfibrinólise, no entanto, não serão registrados⁵². Protocolos viscoelásticos padrão, por sua vez, não contêm ativador de fibrinólise e, como a fibrinólise fisiológica é lenta, não revelam diminuição da atividade fibrinolítica dentro dos tempos de execução padrão (60 min). Isso corresponde ao fato de que 0% da lise está contida nos intervalos de referência dos protocolos padrão. Protocolos modificados com adição de tPA ou uroquinase foram desenvolvidos para uso em pesquisa com ROTEM® e TEG®, sendo um disponibilizado como Sonoclot®, que o

potencial de avaliar a capacidade fibrinolítica no sangue total com resultados clínicos tempos de execução relevantes⁵³⁻⁵⁵.

4.3 MEDIÇÃO DE FATORES CIRCULANTES

4.3.1 Proteínas pró e antifibrinolíticas circulantes

Ensaios específicos estão disponíveis internamente ou comercialmente para a maioria das proteínas pró e antifibrinolíticas conhecidas atualmente, incluindo plasminogênio, α 2-antiplasmina, complexo PAP, tPA, PAI-1 e -2 e TAFI. Tratam-se de ensaios de atividade cromogênica ou de antígeno, que utilizam métodos imunométricos. Usados em pesquisas, esses ensaios tem relevância clínica limitada na medição de marcadores proteicos que avaliam a fibrinólise, possivelmente com exceção de suspeitas de deficiências hereditárias como PAI-1 – que pode promover aumento da tendência ao sangramento – ou plasminogênio –que não está associado ao aumento do risco de trombose, mas à conjuntivite lenhosa^{56,57}. Além da falta de padronização entre os ensaios, para tPA e PAIs também existem problemas adicionais, uma vez que os ensaios disponíveis apresentam diferentes graus de especificidade para proteína livre versus complexo tPA-PAI ou PAI-1 ativo versus latente, dificultando a interpretação dos dados⁵⁸.

4.3.2 Produtos de degradação de fibrina

A medição dos produtos de degradação da fibrina (FDPs) no plasma tem sido realizada há décadas, sendo, entre os biomarcadores de coagulação, um dos mais comumente investigados no mundo. Ensaios semiquantitativos e radioimunoensaios para FDPs foram introduzidos no início da década de 1970^{59,61}. Porém, problemas com a padronização foram identificados, uma vez que os FDPs são heterogêneos e a reatividade cruzada com o fibrinogênio e seus produtos de degradação não pode ser evitada. Na década de 1970, o fragmento do dímero D da fibrina também foi descoberto e isolado. A reticulação do domínio D da fibrina só ocorre após a formação da fibrina e a reticulação do FXIII, sendo o fragmento do dímero D da fibrina liberado do coágulo somente após a digestão da plasmina. A presença de dímero D de fibrina no plasma, portanto, significa formação e degradação contínuas de fibrina. Além disso, o dímero D da fibrina é mais definido e homogêneo do que a ampla gama de FDPs previamente investigada, facilitando o desenvolvimento de anticorpos específicos do dímero D com menos potencial para reação cruzada⁶².

No final da década de 1980, os primeiros ELISAs foram desenvolvidos, tornando o uso clínico da medição do dímero D da fibrina disponível a partir de 1991. Esse marcador, portanto, passou a ser utilizado no diagnóstico de várias condições pró-trombóticas, principalmente tromboembolismo venoso e coagulação intravascular disseminada. Porém,

como o dímero D da fibrina e outros FDPs refletem tanto a formação como a degradação da fibrina, não são particularmente específicos para a velocidade da fibrinólise. Os níveis plasmáticos dos FDPs não se mostraram bons marcadores para o aumento ou diminuição da capacidade fibrinolítica. Outros ensaios de coagulação de rotina, como o tempo de protrombina (TP/INR) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), indicam somente o tempo de coagulação e não são totalmente sensíveis à capacidade fibrinolítica. Assim, ainda faltam marcadores confiáveis para fibrinólise no laboratório de coagulação de rotina⁶³.

5. ALTERAÇÕES DO FIBRINOGÊNIO

5.1 MUTAÇÕES, VARIAÇÃO DE SPLICE E POLIMORFISMOS

As doenças congênitas do fibrinogênio incluem anomalias quantitativas –afibrinogenemia e hipofibrinogenemia – e qualitativas – disfibrinogenemia e hipodisfibrinogenemia. Existem várias mutações nas cadeias $\text{A}\alpha$, $\text{B}\beta$ e γ do fibrinogênio, mais comumente na região N-terminal da cadeia $\text{A}\alpha$ ou na região C-terminal da cadeia γ , causando disfibrinogenemia. Em 25% dos casos, a disfibrinogenemia se manifesta como trombose⁶⁴. Foi relatado que alguns pacientes disfibrinogênicos com história trombótica apresentam estrutura de coágulo de fibrina anormal e lise defeituosa, por exemplo, no fibrinogênio Caracas V, Dusart e Nápoles⁶⁵⁻⁶⁷. A disfibrinogenemia ocasionar trombose arterial em uma idade jovem⁶⁸.

Variações e polimorfismos de splice de fibrinogênio como FGG γ' ou rs2066865 e FGB-455 G/A ou -148 C/T foram associados a um risco aumentado de trombose ou risco de DCV. Cerca de 12% do fibrinogênio plasmático total contém cadeia γ' , uma variante comum de splice de fibrinogênio com um local de ligação adicional de alta afinidade para trombina, circulando como heterodímero $\gamma\text{A}/\gamma'$ ou homodímero γ'/γ' (<1% do fibrinogênio total). Um aumento no fibrinogênio γ' pode contribuir para o desenvolvimento de DCV⁶⁹. Foi demonstrado que o fibrinogênio γ' modula direta e independentemente da trombina a polimerização da fibrina, levando à formação de coágulos mecanicamente mais fracos, compostos de fibras com empacotamento protofibrilar reduzido^{70,71}.

O aumento dos níveis de fibrinogênio γ' tem sido associado a um risco aumentado de trombose arterial e AVC⁷². As concentrações de fibrinogênio γ' se correlacionaram fracamente com o fibrinogênio plasmático total em pacientes após infarto do miocárdio (IM) e em controles populacionais. Porém, o nível aumentado de fibrinogênio γ' foi um preditor independente de IM⁷³. Em pacientes com AVC agudo, a proporção de fibrinogênio γ' em relação ao fibrinogênio total foi maior na fase aguda do que 3 meses após o AVC, sugerindo alteração no processamento do mRNA do fibrinogênio γ durante a fase aguda⁷⁴⁻⁷⁵.

Um estudo de associação genômica revelou que os níveis de fibrinogênio γ' correspondiam à prevalência de DCV⁷⁶. Em uma grande coorte

de sul-africanos negros aparentemente saudáveis, o fibrinogênio γ' se correlacionou mais fortemente do que o fibrinogênio total com a CLT e foi associado a fatores de risco de DCV, como índice de massa corporal (IMC), colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C), síndrome metabólica e níveis de proteína C reativa, explicando quase 20% da variação do fibrinogênio γ' ⁷⁷.

5.2 ALTERAÇÕES PÓS-TRADUÇÃO

Foi demonstrado que alterações na pós-tradução da molécula de fibrinogênio, como oxidação, glicação ou homocisteinilação, afetam a estrutura do coágulo de fibrina, assim como a formação e lise do coágulo, podendo contribuir para doenças trombóticas. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) resulta na oxidação de proteínas e na formação de grupos carbonila ou modificação de aminoácidos. O fibrinogênio é cerca de 20 vezes mais suscetível a essas alterações em comparação com a albumina⁷⁸. Várias alterações oxidativas do fibrinogênio realizadas in vitro – irradiação, fotooxidação, ascorbato/FeCl₃, peroxinitrito, HOCl –, além de níveis mais elevados de marcadores de estresse oxidativo avaliados em alguns estudos em pacientes com distúrbios inflamatórios e trombóticos ou trauma, têm sido associados à redução da rigidez do coágulo, à redução de Ks, ao aumento da densidade do coágulo e principalmente à resistência da fibrina à fibrinólise⁷⁸⁻⁸².

Em indivíduos com síndrome coronariana aguda (SCA), os níveis de proteína C reativa e um produto da peroxidação da membrana celular lipídica, 8-iso-prostaglandina F₂ α , foram preditores independentes das propriedades do coágulo de fibrina⁷⁹. Níveis elevados de 8-iso-prostaglandina F₂ α medidos antes e depois da cirurgia de revascularização do miocárdio foram associados à mortalidade cardiovascular e por todas as causas⁸². Em pacientes com fibrilação atrial (FA), concentrações aumentadas de 8-isoprostano foram associadas à redução de Ks e eventos tromboembólicos durante o acompanhamento, apesar da terapia anticoagulante⁸³. As alterações oxidativas das proteínas fibrinolíticas, principalmente do plasminogênio, também estão associadas a uma fibrinólise menos eficaz em pacientes após trombose venosa. Os dados sobre esta modificação na DCV são escassos⁸⁴.

A glicose pode se ligar de forma não enzimática às proteínas, alterando sua função. A glicação ocorre em níveis normais de glicose no sangue como consequência do estresse oxidativo ou em níveis mais elevados de glicose em pacientes diabéticos. O fibrinogênio é propenso à glicação nos resíduos de lisina e uma glicação de fibrinogênio cerca de duas vezes maior foi relatada em pacientes com DM2 em comparação com controles não diabéticos⁸⁵. Os coágulos formados a partir de fibrinogênio purificado de pacientes com DM2 em comparação com controles eram mais densos e menos porosos, e medidas comuns de coágulo, incluindo Ks, absorvância de fibrina, número de pontos de ramificação e densidade da rede

de fibrina, se correlacionaram-se com HbA1c⁸⁶. Um modelo purificado semelhante mostrou uma cinética alterada de formação de fibrina, resultando na redução da suscetibilidade do coágulo à fibrinólise⁸⁷.

Locais de N -homocisteinilação no fibrinogênio, associados à formação de uma estrutura de fibrina mais densa com suscetibilidade reduzida à fibrinólise, juntamente com ativação prejudicada do plasminogênio foram encontrados em resíduos de lisina nas cadeias α , β e γ do fibrinogênio (α -Lys562, β -Lys344 e γ -Lys385)⁸⁸. Foi relatado que níveis elevados de homocisteína estão associados ao fenótipo de coágulo pró-trombótico entre pacientes com DAC, embora o impacto relativo desta variável na presença de outros moduladores potentes pareça insignificante na DCV⁸⁹.

5.3 SUB-REGIÕES DE FIBRINOGENIO

Para avaliar a influência das sub-regiões de fibrinogênio na formação de fibrina, estrutura e mecânica do coágulo, diferentes variantes de fibrinogênio foram estudadas nos últimos anos. Funções críticas das sub-regiões α C foram demonstradas usando fibrinogênio humano recombinante α 390 – truncado antes do domínio α C – e α 220 – truncado no início do conector α C⁹⁰. Os coágulos preparados com a variante α 390 eram densos e compostos por fibras mais finas, enquanto a variante α 220 estava associada à formação de redes de fibrina porosas e fracas, o que pode ter implicações potenciais como alvos terapêuticos para reduzir o risco de trombose. A exposição mediada pela trombina de botões e orifícios em monômeros de fibrina – durante a polimerização de fibrinogênios com mutações em resíduos de pareamento de íons adjacentes ao local do botão e envolvidos no comportamento de deslizamento das ligações de fibrina – mostrou como esses resíduos são importantes para a fibrina adequada, o crescimento de fibras e o empacotamento de protofibrilas⁹¹. Um modelo murino com reticulação da cadeia γ de fibrina eliminada pelo FXIII formou trombos com força reduzida, que eram propensos à fragmentação e aumentaram a embolização sem qualquer efeito no tamanho do coágulo ou na sua suscetibilidade à lise⁹².

6. FIBRINÓLISE COMPROMETIDA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

6.1 SÍNDROME CORONARIANA AGUDA

Os estudos iniciais que investigaram a fibrinólise em indivíduos com DAC foram observacionais e um estudo com um pequeno número de pacientes com SCA mostrou estrutura do coágulo mais densa, menor permeabilidade do coágulo, polimerização mais rápida do coágulo e tempo de lise prolongado, em comparação com 40 pacientes controles saudáveis⁷⁹. Estudos prospectivos posteriores demonstraram que a fibrinólise prejudicada está associada a resultados vasculares adversos em indivíduos com SCA aguda. Um estudo envolvendo 270 pacientes mostrou que o aumento da força do coágulo medido pelo TEG pode prever eventos isquêmicos

recorrentes em pacientes com SCA submetidos a intervenção coronária percutânea primária⁹³.

Três outros estudos prospectivos avaliaram o efeito do tempo prolongado de lise do coágulo em 300, 496 e 82 pacientes, apresentando SCA ou infarto agudo do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST (IAMCSST). Os resultados demonstraram que o tempo de lise prolongado prediz fortemente eventos cardiovasculares adversos maiores (MACE) ou morte cardiovascular⁹⁴⁻⁹⁶. Além disso, pacientes com IAMCSST com tempo de lise <1.000 segundos tiveram maior chance de reperfusão espontânea^{94,95}.

As análises do estudo PLATO, que envolveu mais de 4.354 pacientes com SCA, também concluíram que cada aumento de 50% no tempo de lise do coágulo plasmático, medido por análise turbidimétrica, está associado a um risco aumentado de 36% de morte cardiovascular em 12 meses, sendo essa associação ainda significativa após o ajuste para biomarcadores inflamatórios e prognósticos. Da mesma forma, cada aumento de 50% na turbidez máxima foi associado à morte cardiovascular. Porém, essa associação perdeu significância após ajuste para marcadores vasculares clínicos e bioquímicos⁹⁷. Os resultados desses estudos revelam que a fibrinólise prejudicada representa um fator de risco residual para eventos cardiovasculares em pacientes com SCA, apesar da terapia antiplaquetária dupla^{73,93-97}.

6.2 AVC ISQUÊMICO AGUDO

Um estudo de caso-controle que envolveu 45 pacientes internados por AVC isquêmico agudo dentro de 72 horas após o início mostrou que os coágulos plasmáticos desses pacientes eram menos porosos e mais compactos, com tempo de lise mais longo do que aqueles de controles saudáveis⁹⁸. Um estudo prospectivo de 74 pacientes com AVC isquêmico agudo recebendo terapia trombolítica mostraram que coágulos menos porosos com tempo de lise mais longo previram resposta neurológica adversa em 3 meses⁹⁹.

6.3 ISQUEMIA AGUDA DE MEMBRO OU ISQUEMIA CRÍTICA DE MEMBRO

Um estudo caso-controle com 43 pacientes com histórico de isquemia aguda de membro, encaminhados para tratamentos invasivos adicionais, identificou que os coágulos plasmáticos dos pacientes tinham menor permeabilidade e maior geração de trombina, mas não houve diferenças na formação ou tempo de lise em comparação com 43 controles saudáveis¹⁰⁰. Em outro estudo caso-controle 85 pacientes com isquemia crítica de membros que foram submetidos à terapia endovascular e tiveram reestenose sintomática no segmento tratado durante um acompanhamento de 12 meses. Formado por 47 pacientes com doença arterial periférica, o grupo de controle foi (DAP) foi pareado por idade, sexo e risco cardiovascular. Os resultados mostraram que os coágulos plasmáticos de pacientes com isquemia crítica de membros apresentaram menor permeabilidade do coágulo e tempo

prolongado de lise do coágulo. Os autores também concluíram que pacientes com isquemia crítica de membros e reestenose tiveram uma taxa 3,3 vezes maior de efeitos adversos e eventos compostos (reintervenção, amputação grave e morte cardiovascular) em comparação aos controles¹⁰¹.

6.4 DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA ESTÁVEL

Pacientes com DAC estável geralmente apresentam coágulos plasmáticos *ex vivo* que são mais compactos e apresentam maior resistência à lise em comparação aos controles saudáveis^{102,103}. Curiosamente, entre aqueles com DAC estável, uma história de IM prévio pode estar associada ao aumento da densidade do coágulo e ao tempo de lise prolongado¹⁰⁴. O estudo TRIP também encontrou associação entre a força do coágulo plaquetário-fibrina, medida pelo TEG, e sintomas de pacientes com DAC. Nesse estudo, 171 pacientes com DAC – incluindo 67 com DAC estável assintomática, 71 com angina estável e 33 com doença instável – indicaram que os pacientes com angina instável exibiram os coágulos mais fortes, seguidos por aqueles com angina estável, enquanto os indivíduos com doença assintomática tiveram os coágulos mais fracos¹⁰⁵.

Resultados de 2 estudos prospectivos verificaram que o aumento da força do coágulo de fibrina rica em plaquetas, medida pelo TEG, indica eventos isquêmicos recorrentes dentro de 2 anos em pacientes com DAC estável^{106,107}. Porém, o efeito da lise prolongada do coágulo no aumento do risco de eventos cardiovasculares parece ter um impacto menor do que na SCA. Neergaard-Petersen et al¹⁰⁸ acompanharam 786 pacientes com DAC estável (90% tinham infarto prévio) durante 3,1 anos e descobriram que apenas a área sob a curva (AUC) de formação de coágulos e lise previu desfechos cardiovasculares compostos, mas não o tempo de lise ou a turvação máxima. Esse estudo, no entanto, teve um tamanho de amostra relativamente pequeno, com apenas 70 (9%) eventos ocorrendo durante o período de acompanhamento de 3,1 anos. Assim, era provável que a turvação máxima ou o tempo de lise não eram suficientes para prever os resultados quando analisados separadamente, mas a análise combinada era capaz de mostrar uma associação.

6.5 HISTÓRICO ANTERIOR DE AVC ISQUÊMICO

Vários estudos de caso-controle indicam que pacientes com AVC isquêmico prévio produzem coágulos mais compactos e resistentes à lise, quando comparados com controles saudáveis¹⁰⁹⁻¹¹¹. Existe apenas um estudo prospectivo sobre AVC isquêmico recorrente ou eventos de ataque isquêmico transitório em 218 pacientes com estenose arterial extra ou intracraniana submetidos a implante de stent. Usando o TEG, 18 pacientes que desenvolveram eventos apresentaram coágulos de plaquetas e fibrina mais fortes em comparação com aqueles que permaneceram livres de um evento. Porém, 9 dos 18 eventos ocorreram dentro de 7 dias após o implante do stent. O resultado, nesse caso, deve ser considerado como um efeito de curto prazo

da fibrinólise prejudicada na retrombose do stent, e não como um efeito de longo prazo¹¹².

6.6 DOENÇA NA ARTÉRIA PERIFÉRICA

Dois pequenos estudos de caso-controle demonstraram que os coágulos produzidos a partir do plasma de pacientes com DAP eram mais compactos e resistentes à lise do que os controles correspondentes, que apresentavam outras DCV crônicas^{113,114}. Undas et al¹¹³ avaliaram coágulos ex vivo de 106 pacientes com DAP, com 70 anos de idade, e descobriram que os coágulos tinham menor permeabilidade, maior densidade e tempo de lise prolongado, em comparação com controles correspondentes. Da mesma forma, em outro estudo realizado por Okraska-Bylica et al¹¹⁴, coágulos de 31 pacientes mais jovens com DAC prematura, com idade 55 anos, também indicaram permeabilidade reduzida do coágulo e tempo de lise prolongado em comparação com controles correspondentes.

7. TERAPIAS ADJUVANTES PARA ATINGIR A HIPOFIBRINÓLISE NA DCV

As evidências disponíveis indicam que o risco residual de trombose em indivíduos com DCV pode ser melhorado a partir de um ambiente hipofibrinolítico, além do uso de terapias antiplaquetárias. As terapias atuais para a hipofibrinólise têm como alvo indireto a lise do coágulo, tornando a rede de fibrina mais suscetível à lise e os agentes que afetam diretamente uma ou múltiplas proteínas no sistema fibrinolítico ainda não estão disponíveis para uso clínico.

7.1 INIBIDORES DO FATOR XA

A inibição do FXa na cascata de coagulação leva à diminuição da geração de trombina, resultando na redução da formação de coágulos, juntamente com a geração de redes de fibrina que são menos compactas, com maior suscetibilidade à lise. Além disso, os inibidores do fator Xa possivelmente aumentam a fibrinólise ao interferir na ativação do TAFI^{115,116}. O uso de um inibidor do FXa, além da terapia antiplaquetária padrão, pode oferecer benefícios adicionais em pacientes com DCV. Porém, ainda não está claro se os benefícios adicionais da combinação antiplaquetária/anticoagulante estão relacionados à redução na formação de coágulos de fibrina, ao aumento da fibrinólise ou a uma combinação dos dois. O estudo EDOX-APT testou os efeitos de 30 e 60 mg de edoxabana na cinética do coágulo em 75 pacientes com DAC tomando aspirina e clopidogrel. Os autores concluíram que a edoxabana atrasou a geração de trombina de maneira dose-dependente, mas não afetou a firmeza máxima do coágulo medida pelo TEG¹¹⁷.

No estudo ATLAS ACS 2-TIMI 51¹¹⁸, um total de 15.526 pacientes com SCA de alto risco foram randomizados para receber rivaroxabana em baixa dose (2,5 mg), duas vezes ao dia, rivaroxabana (5 mg) duas vezes ao dia ou placebo, além da terapia antiplaquetária padrão, e foram

acompanhados por uma mediana de 13,1 meses. Em comparação ao placebo, os grupos tratados com 2,5 e 5 mg de rivaroxabana, duas vezes ao dia, reduziram significativamente MACE e tiveram um aumento do sangramento TIMI. A rivaroxabana em doses baixas também reduziu a morte cardiovascular, enquanto a rivaroxabana 5 mg, duas vezes ao dia, não demonstrou efeito. Com base nestes dados, a rivaroxabana em dose baixa em pacientes de alto risco, associada à TAPD (aspirina e clopidogrel) ou à aspirina isoladamente, foi aprovada pela European Medicines Agency (EMA).

Porém, esses resultados não foram os mesmos registrados em estudo semelhante, que utilizou apixabana (5 mg/ dia), além de DAPT ou aspirina isoladamente, em pacientes com SCA de alto risco. Esse estudo foi encerrado prematuramente devido a um aumento nos eventos hemorrágicos maiores com apixabana, na ausência de uma redução compensatória nos eventos isquêmicos recorrentes, após um acompanhamento médio de 241 dias¹¹⁹.

Na doença cardiovascular crônica estável, o estudo COMPASS¹²⁰ avaliou 27.395 pacientes com artérias coronárias estáveis de risco ou PADs, que foram aleatoriamente submetidos a tratamento com rivaroxabana em dose baixa (2,5 mg duas vezes ao dia) mais aspirina, rivaroxabana (5 mg duas vezes ao dia) ou aspirina (100 mg ao dia). Durante um acompanhamento médio de 23 meses, o composto de morte cardiovascular, AVC ou IM foi significativamente menor na dose baixa de rivaroxabana mais aspirina, em comparação com aspirina isoladamente, com uma contrapartida de maior risco de sangramento grave. A combinação de rivaroxabana e aspirina também reduziu a mortalidade por todas as causas em cerca 18%.

Em uma análise de subgrupo de pacientes com DAP, a terapia combinada mostrou redução nas amputações, indicando que os benefícios estão relacionados não apenas à redução de eventos coronarianos, mas também na isquemia crítica de membro¹²¹.

7.2 INIBIDOR DIRETO DA TROMBINA (DABIGATRANA)

A dabigatrana se liga diretamente aos sítios ativos da trombina, inibindo sua ação e também promove a fibrinólise com a redução na ativação do TAFI¹²². Em um estudo que mediu coágulos plasmáticos ex vivo de pacientes com fibrilação atrial por análise turbidimétrica, os inibidores dabigatrana e fator Xa atrasaram a formação de coágulos e diminuíram modestamente a firmeza do coágulo¹²³. Por outro lado, um estudo que avaliou a geração de trombina e a firmeza do coágulo no sangue total e no plasma usando TEG de 8 voluntários saudáveis verificou que, embora os inibidores de FXa e dabigatrana prolongassem efetivamente a geração de trombina, nenhum deles alterou a firmeza do coágulo¹²⁴.

Esses achados são semelhantes aos resultados de um estudo duplo-cego, placebo, randomizado e controlado (ECR), que incluiu 35 pacientes com DAC em uso de TAPD com aspirina e clopidogrel. O dabigatrano

diminuiu significativamente a atividade da trombina e atrasou a formação de coágulos de fibrina, sem afetar a estrutura do coágulo ou a fibrinólise¹²⁵.

O estudo RE-LY¹²⁶, por sua vez, analisou o uso de dabigatrana na prevenção de eventos isquêmicos em pacientes com fibrilação atrial e encontrou um possível aumento do risco de IM, apesar da redução no AVC composto e eventos embólicos, enquanto no estudo RE-DEEM¹²⁷ de fase II, o dabigatrana foi associado a um aumento dependente da dose em eventos hemorrágicos sem redução de MACE. Dados de uma meta-análise que incluiu mais de 30.000 pacientes, em 7 estudos, indicaram que o dabigatrano estava associado a um risco aumentado de IM e SCA, considerando que o medicamento não é uma opção viável para pacientes com DAC¹²⁸.

REFERÊNCIAS

1. Tso CW, Aday AW, Almarzoq ZI, Alonso A, Beaton AZ, Bittencourt MS, et al. Heart disease and stroke statistics-2022 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2022;145:e153–e639.
2. Liberale L, Badimon L, Montecucco F, Lüscher TF, Libby P, Camici GG. Inflammation, aging, and cardiovascular disease: JACC review topic of the week. *J Am Coll Cardiol* 2022;79: 837–847.
3. Cate H, Meade T. The Northwick Park Heart Study: evidence from the laboratory. *J Thromb Haemost* 2014;12:587–592.
4. Fibrinogen Studies Collaboration, Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GDO, Collins R, Kostis JB, Wilson AC, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005;294: 1799–1809.
5. Ward-Caviness CK, de Vries PS, Wiggins KL, Huffman JE, Yanek LR, Bielak LF, et al. Mendelian randomization evaluation of causal effects of fibrinogen on incident coronary heart disease. *PLoS One* 2019;14:e0216222.
6. Litvinov RI, Pieters M, de Lange-Loots Z, Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. *Subcell Biochem* 2021;96:471–501.
7. Liu W, Jawerth LM, Sparks EA, Falvo MR, Hantgan RR, Superfine R, Lord ST, Guthold M. Fibrin fibers have extraordinary extensibility and elasticity. *Science* 2006;313:634.
8. Pavlov M, Čelap I. Plasminogen activator inhibitor 1 in acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta* 2019;491:52–58.
9. Jung RG, Motazedian P, Ramirez FD, Simard T, di Santo P, Visintini S, Faraz MA, Labinaz A, Jung Y, Hibbert B. Association between plasminogen activator inhibitor-1 and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Thromb J* 2018;16:12.

10. Kim PY, Tieu LD, Stafford AR, Fredenburgh JC, Weitz JI. A high affinity interaction of plasminogen with fibrin is not essential for efficient activation by tissue-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 2012;287:4652–4661.
11. Pechlivani N, Kearney KJ, Ajjan RA. Fibrinogen and antifibrinolytic proteins: interactions and future therapeutics. *Int J Mol Sci* 2021;22:12537.
12. Surma S, Banach M. Fibrinogen and atherosclerotic cardiovascular diseases—review of the literature and clinical studies. *Int J Mol Sci* 2021;23:193.
13. Kwaan HC. From fibrinolysis to the plasminogen-plasmin system and beyond: A remarkable growth of knowledge, with personal observations on the history of fibrinolysis. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(5):585–591.
14. Green JR. Note on the Action of Sodium Chloride in dissolving Fibrin. *J Physiol.* 1887;8(5):372–377.
15. Macfarlane RG, Biggs R. Fibrinolysis; its mechanism and significance. *Blood.* 1948;3(10):1167–1187.
16. Christensen LR, Macleod CM. A proteolytic enzyme of serum: Characterization, activation, and reaction with inhibitors. *J Gen Physiol.* 1945;28(6):559–583.
17. Astrup T, Stage A. Isolation of a soluble fibrinolytic activator from animal tissue. *Nature.* 1952;170(4337):929.
18. Kwaan HC, Lo R, McFadzean AJ. On the production of plasma fibrinolytic activity within veins. *Clin Sci.* 1957;16(3):241–253.
19. Todd AS. The histological localisation of fibrinolysin activator. *J Pathol Bacteriol.* 1959;78(2):281–283.
20. Tillett WS, Garner RL. The fibrinolytic activity of hemolytic streptococci. *J Exp Med.* 1933;58(4):485–502.
21. Tillett WS, Sherry S. The effect in patients of streptococcal fibrinolysin (streptokinase) and streptococcal desoxyribonuclease on fibrinous, purulent, and sanguinous pleural exudations. *J Clin Investig.* 1949;28(1 Pt 1):173–190.
22. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing GJ, Harjola VP, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2020;41(6):543–603.
23. Berge E, Whiteley W, Audebert H, De Marchis GM, Fonseca AC, Padiglioni C, et al. European Stroke Organisation (ESO) guidelines on intravenous thrombolysis for acute ischaemic stroke. *Eur Stroke J.* 2021;6: I–LXII.
24. Nielsen LS, Kellerman GM, Behrendt N, Picone R, Danø K, Blasi F. A 55,000–60,000 Mr receptor protein for urokinase-type plasminogen activator.

Identification in human tumor cell lines and partial purification. *J Biol Chem.* 1988;263(5):2358–2363.

25. Ploug M, Rønne E, Behrendt N, Jensen AL, Blasi F, Danø K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem.* 1991;266(3):1926–1933.

26. Eugen-Olsen J, Andersen O, Linneberg A, Ladelund S, Hansen TW, Langkilde A, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes and mortality in the general population. *J Intern Med.* 2010;268(3):296–308.

27. Sudhini YR, Wei C, Reiser J. suPAR: An Inflammatory Mediator for Kidneys. *Kidney Dis.* 2022;8(5):265–274.

28. Syrovets T, Lunov O, Simmet T. Plasmin as a proinflammatory cell activator. *J Leukoc Biol.* 2012;92(3):509–519.

29. Stepanova V, Jayaraman PS, Zaitsev SV, Lebedeva T, Bdeir K, Kershaw R, et al. Urokinase-type Plasminogen Activator (uPA) Promotes Angiogenesis by Attenuating Proline-rich Homeodomain Protein (PRH) Transcription Factor Activity and De-repressing Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Receptor Expression. *J Biol Chem.* 2016;291(29):15029–15045.

30. Napolitano F, Montuori N. The Role of the Plasminogen Activation System in Angioedema: Novel Insights on the Pathogenesis. *J Clin Med.* 2021;10(3):518.

31. Hethershaw EL, Cilia La Corte AL, Duval C, Ali M, Grant PJ, Ariëns RA, et al. The effect of blood coagulation factor XIII on fibrin clot structure and fibrinolysis. *J Thromb Haemost.* 2014;12(2):197–205.

32. Horrevoets AJ, Pannekoek H, Nesheim ME. A steady-state template model that describes the kinetics of fibrin-stimulated [Glu1]- and [Lys78] plasminogen activation by native tissue-type plasminogen activator and variants that lack either the finger or kringle-2 domain. *J Biol Chem.* 1997;272(4):2183–2191.

33. Thunø M, Macho B, Eugen-Olsen J. suPAR: The molecular crystal ball. *Dis Markers.* 2009;27(3):157–172.

34. Aoki N. Discovery of alpha2-plasmin inhibitor and its congenital deficiency. *J Thromb Haemost.* 2005;3(4):623–631.

35. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1: Physiological and pathophysiological roles. *News Physiol Sci.* 2002;17:56–61.

36. Bajzar L, Morser J, Nesheim M. TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. *J Biol Chem.* 1996;271(28):16603–16608.

37. Wolberg AS, Monroe DM, Roberts HR, Hoffman M. Elevated prothrombin results in clots with an altered fiber structure: A possible mechanism of the increased thrombotic risk. *Blood*. 2003;101(8):3008–3013.
38. Gabriel DA, Muga K, Boothroyd EM. The effect of fibrin structure on fibrinolysis. *J Biol Chem*. 1992;267(34):24259–24263.
39. Collet JP, Park D, Lesty C, Soria J, Soria C, Montalescot G, et al. Influence of fibrin network conformation and fibrin fiber diameter on fibrinolysis speed: Dynamic and structural approaches by confocal microscopy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1354–1361.
40. Ariëns RA. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost*. 2013;11 Suppl 1:294–305.
41. Dunn EJ, Ariens RA, Grant PJ. The influence of type 2 diabetes on fibrin structure and function. *Diabetologia*. 2005;48(6):1198–1206.
42. Fan NK, Keegan PM, Platt MO, Averett RD. Experimental and imaging techniques for examining fibrin clot structures in normal and diseased states. *J Vis Exp*. 2015;(1):e52019.
43. Longstaff C. Measuring fibrinolysis: From research to routine diagnostic assays. *J Thromb Haemost*. 2018;16(4):652–662.
44. Astrup T, Mullertz S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch Biochem Biophys*. 1952;40(2):346–351.
45. Beebe DP, Aronson DL. An automated fibrinolytic assay performed in microtiter plates. *Thromb Res*. 1987;47(2):123–128.
46. Smith AA, Jacobson LJ, Miller BI, Hathaway WE, Manco-Johnson MJ. A new euglobulin clot lysis assay for global fibrinolysis. *Thromb Res*. 2003;112(6):329–337.
47. Urano T, Sakakibara K, Rydzewski A, Urano S, Takada Y, Takada A. Relationships between euglobulin clot lysis time and the plasma levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor 1. *Thromb Haemost*. 1990;63(1):82–86.
48. Pieters M, Philippou H, Undas A, de Lange Z, Rijken DC, Mutch NJ. An international study on the feasibility of a standardized combined plasma clot turbidity and lysis assay: Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018;16(5):1007–1012.
49. Miszta A, Huskens D, Donkervoort D, Roberts MJM, Wolberg AS, de Laat B. Assessing Plasmin Generation in Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2758.
50. Rossaint R, Afshari A, Bouillon B, Cerny V, Cimpoesu D, Curry N, et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: Sixth edition. *Crit Care*. 2023;27:80.

51. Chapman MP, Moore EE, Moore HB, Gonzalez E, Morton AP, Chandler J, et al. The “Death Diamond”: Rapid thrombelastography identifies lethal hyperfibrinolysis. *J Trauma Acute Care Surg.* 2015;79(6):925–929.
52. Raza I, Davenport R, Rourke C, Platton S, Manson J, Spoons C, et al. The incidence and magnitude of fibrinolytic activation in trauma patients. *J Thromb Haemost.* 2013;11(2):307–314.
53. Kuiper GJ, Kleinegris MC, van Oerle R, Spronk HM, Lance MD, Ten Cate H, et al. Validation of a modified thromboelastometry approach to detect changes in fibrinolytic activity. *Thromb J.* 2016;14:1.
54. Larsen JB, Hvas CL, Hvas AM. Modified Rotational Thromboelastometry Protocol Using Tissue Plasminogen Activator for Detection of Hypofibrinolysis and Hyperfibrinolysis. *Methods Mol Biol.* 2023;2663:763–773.
55. Panigada M, Zacchetti L, L’Acqua C, Cressoni M, Anzoletti MB, Bader R, et al. Assessment of Fibrinolysis in Sepsis Patients with Urokinase Modified Thromboelastography. *PLoS ONE.* 2015;10(9):e0136463.
56. Mehta R, Shapiro AD. Plasminogen activator inhibitor type 1 deficiency. *Haemophilia.* 2008;14(6):1255–1260.
57. Schuster V, Zeitler P, Seregard S, Ozcelik U, Anadol D, Luchtman-Jones L, et al. Homozygous and compound-heterozygous type I plasminogen deficiency is a common cause of ligneous conjunctivitis. *Thromb Haemost.* 2001;85(6):1004–1010.
58. Declerck PJ, Moreau H, Jespersen J, Gram J, Kluft C. Multicenter evaluation of commercially available methods for the immunological determination of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). *Thromb Haemost.* 1993;70(5):858–863.
59. Olson JD. D-dimer: An Overview of Hemostasis and Fibrinolysis, Assays, and Clinical Applications. *Adv Clin Chem.* 2015;69:1–46.
60. Donati MB. Assays for fibrinogen-fibrin degradation products in biological fluids: Some methodological aspects. *Thromb Et Diath Haemorrh.* 1975;34(3):652–660.
61. Ratky SM, Martin MJ, Gordon YB, Baker LR, Chard T, Leslie J. A comparison between radioimmunoassay and other immunological techniques for the measurement of fibrinogen/fibrin degradation products in serum. *Br J Haematol.* 1975;30(1):145–149.
62. Gaffney PJ. Subunit relationships between fibrinogen and fibrin degradation products. *Thromb Res.* 1973;2(2):201–217.

63. Greenberg CS, Devine DV, McCrae KM. Measurement of plasma fibrin D-dimer levels with the use of a monoclonal antibody coupled to latex beads. *Am J Clin Pathol* 1987;87(1):94–100.
64. Casini A, Undas A, Palla R, Thachil J, de Moerloose P, Subcommittee on Factor XIII and Fibrinogen. Diagnosis and classification of congenital fibrinogen disorders: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2018;16:1887–1890.
65. Marchi R, Lundberg U, Grimbergen J, Koopman J, Torres A, de Bosch NB, Haverkate F, Arocha Piñango CL. Fibrinogen Caracas V, an abnormal fibrinogen with an Aalpha 532 Ser→Cys substitution associated with thrombosis. *Thromb Haemost* 2000;84:263–270.
66. Koopman J, Haverkate F, Lord ST, Grimbergen J, Mannucci PM. Molecular basis of fibrinogen Naples associated with defective thrombin binding and thrombophilia. Homozygous substitution of B beta 68 Ala→Thr. *J Clin Invest* 1992;90:238–244.
67. Collet JP, Soria J, Mirshahi M, Hirsch M, Dagonnet FB, Caen J, Soria C. Dusart syndrome: a new concept of the relationship between fibrin clot architecture and fibrin clot degradability: hypofibrinolysis related to an abnormal clot structure. *Blood* 1993;82:2462–2469.
68. Trelieński J, Witkowski M, Chojnowski K, Neerman-Arbez M, Wypasek E, Undas A. Fibrinogen Łódź: a new cause of dysfibrinogenemia associated with recurrent thromboembolic arterial events. *Pol Arch Intern Med* 2019;129:934–935.
69. Ariëns RAS. Novel mechanisms that regulate clot structure/function. *Thromb Res* 2016; 141(Suppl. 2):S25–S27.
70. Allan P, Uitte de Willige S, Abou-Saleh RH, Connell SD, Ariëns RAS. Evidence that fibrinogen γ' directly interferes with protofibril growth: implications for fibrin structure and clot stiffness. *J Thromb Haemost* 2012;10:1072–1080.
71. Domingues MM, Macrae FL, Duval C, McPherson HR, Bridge KI, Ajjan RA, Ridger VC, Connell SD, Philippou H, Ariëns RAS. Thrombin and fibrinogen γ' impact clot structure by marked effects on intrafibrillar structure and protofibril packing. *Blood* 2016;127: 487–495.
72. Lovely RS, Falls LA, Al-Mondhiry HA, Chambers CE, Sexton GJ, Ni H, Farrell DH. Association of gammaA/gamma' fibrinogen levels and coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2002;88:26–31.
73. Mannila MN, Lovely RS, Kazmierczak SC, Eriksson P, Samnegård A, Farrell DH, Hamsten A, Silveira A. Elevated plasma fibrinogen gamma' concentration is associated with myocardial infarction: effects of variation in fibrinogen genes and environmental factors. *J Thromb Haemost* 2007;5:766–773.

74. Cheung EYL, Uitte de Willige S, Vos HL, Leebeek FWG, Dippel DWJ, Bertina RM, de Maat MPM. Fibrinogen gamma' in ischemic stroke: a case-control study. *Stroke* 2008;39: 1033–1035.
75. Cheung EYL, Vos HL, Kruij MJHA, den Hertog HM, Jukema JW, de Maat MPM. Elevated fibrinogen gamma' ratio is associated with cardiovascular diseases and acute phase reaction but not with clinical outcome. *Blood* 2009;114:4603–4604; author reply 4604–4605.
76. Lovely RS, Yang Q, Massaro JM, Wang J, D'Agostino RB, O'Donnell CJ, Shannon J, Farrell DH. Assessment of genetic determinants of the association of γ' fibrinogen in relation to cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:2345–2352.
77. Pieters M, Kotze RC, Jerling JC, Kruger A, Ariëns RAS. Evidence that fibrinogen γ' regulates plasma clot structure and lysis and relationship to cardiovascular risk factors in black Africans. *Blood* 2013;121:3254–3260.
78. de Vries JJ, Snoek CJM, Rijken DC, de Maat MPM. Effects of post-translational modifications of fibrinogen on clot formation, clot structure, and fibrinolysis: a systematic review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020;40:554–569.
79. Undas A, Szuldrzynski K, Stepień E, Zalewski J, Godlewski J, Tracz W, Pasowicz M, Zmudka K. Reduced clot permeability and susceptibility to lysis in patients with acute coronary syndrome: effects of inflammation and oxidative stress. *Atherosclerosis* 2008;196:551–557.
80. Becatti M, Marcucci R, Bruschi G, Taddei N, Bani D, Gori AM, Giusti B, Gensini GF, Abbate R, Fiorillo C. Oxidative modification of fibrinogen is associated with altered function and structure in the subacute phase of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34:1355–1361.
81. White NJ, Wang Y, Fu X, Cardenas JC, Martin EJ, Brophy DF, Wade CE, Wang X, St John AE, Lim EB, Stern SA, Ward KR, López JA, Chung D. Post-translational oxidative modification of fibrinogen is associated with coagulopathy after traumatic injury. *Free Radic Biol Med* 2016;96:181–189.
82. Gołąb A, Plicner D, Rzucidło-Hymczak A, Tomkiewicz-Pająk L, Gawęda B, Kapelak B, Undas A. 8-Isoprostanes and asymmetric dimethylarginine as predictors of mortality in patients following coronary bypass surgery: a long-term follow-up study. *J Clin Med* 2022;11: 246.
83. Mołek P, Chmiel J, Ząbczyk M, Malinowski KP, Natorska J, Undas A. Elevated 8-isoprostane concentration is associated with thromboembolic events in patients with atrial fibrillation. *Int J Cardiol* 2022;365:1–7.
84. Bryk-Wiązania AH, Cysewski D, Ocioń E, Undas A. Mass-spectrometric identification of oxidative modifications in plasma-purified plasminogen: association with hypofibrinolysis in patients with acute pulmonary embolism. *Biochem Biophys Res Commun* 2022;621: 53–58.

85. Pieters M, Covic N, Loots DT, van der Westhuizen FH, van Zyl DG, Rheeder P, Jerling JC, Weisel JW. The effect of glycaemic control on fibrin network structure of type 2 diabetic subjects. *Thromb Haemost* 2006;96:623–629.
86. Dunn EJ, Ariëns RAS, Grant PJ. The influence of type 2 diabetes on fibrin structure and function. *Diabetologia* 2005;48:1198–1206.
87. Pieters M, Covic N, van der Westhuizen FH, Nagaswami C, Baras Y, Toit Loots D, Jerling JC, Elgar D, Edmondson KS, van Zyl DG, Rheeder P, Weisel JW. Glycaemic control improves fibrin network characteristics in type 2 diabetes—a purified fibrinogen model. *Thromb Haemost* 2008;99:691–700.
88. Jakubowski H. Homocysteine modification in protein structure/function and human disease. *Physiol Rev* 2019;99:555–604.
89. Undas A, Brozek J, Jankowski M, Siudak Z, Szczeklik A, Jakubowski H. Plasma homocysteine affects fibrin clot permeability and resistance to lysis in human subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1397–1404.
90. McPherson HR, Duval C, Baker SR, Hindle MS, Cheah LT, Asquith NL, Domingues MM, Ridger VC, da Connell S, Naseem KM, Philippou H, Ajjan RA, Ariëns RA. Fibrinogen α C-subregions critically contribute blood clot fibre growth, mechanical stability, and resistance to fibrinolysis. *Elife* 2021;10:e68761.
91. Asquith NL, Duval C, Zhmurov A, Baker SR, McPherson HR, Domingues MM, Connell SDA, Barsegov V, Ariëns RAS. Fibrin protofibril packing and clot stability are enhanced by extended knob-hole interactions and catch-slip bonds. *Blood Adv* 2022;6:4015–4027.
92. Duval C, Baranauskas A, Feller T, Ali M, Cheah LT, Yuldasheva NY, Baker SR, McPherson HR, Raslan Z, Bailey MA, Cubbon RM, Connell SD, Ajjan RA, Philippou H, Naseem KM, Ridger VC, Ariëns RAS. Elimination of fibrin γ -chain cross-linking by FXIIIa increases pulmonary embolism arising from murine inferior vena cava thrombi. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021;118:e2103226118.
93. Kreutz RP, Schmeisser G, Maatman B, et al. Fibrin clot strength measured by thrombelastography and outcomes after percutaneous coronary intervention. *Thromb Haemost* 2017;117(02):426–428.
94. Farag M, Spinhakis N, Gue YX, et al. Impaired endogenous fibrinolysis in ST-segment elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention is a predictor of recurrent cardiovascular events: the RISK PPCI study. *Eur Heart J* 2019;40(03):295–305.
95. Christopoulos C, Farag M, Sullivan K, Wellsted D, Gorog DA. Impaired thrombolytic status predicts adverse cardiac events in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Thromb Haemost* 2017;117(03):457–470.

96. Saraf S, Christopoulos C, Salha IB, Stott DJ, Gorog DA. Impaired endogenous thrombolysis in acute coronary syndrome patients predicts cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(19):2107–2115.
97. Sumaya W, Wallentin L, James SK, et al. Fibrin clot properties independently predict adverse clinical outcome following acute coronary syndrome: a PLATO substudy. *Eur Heart J* 2018;39(13):1078–1085.
98. Undas A, Slowik A, Wolkow P, Szczudlik A, Tracz W. Fibrin clot properties in acute ischemic stroke: relation to neurological deficit. *Thromb Res* 2010;125(04):357–361.
99. Bembenek JP, Niewada M, Siudut J, Plens K, Członkowska A, Undas A. Fibrin clot characteristics in acute ischaemic stroke patients treated with thrombolysis: the impact on clinical outcome. *Thromb Haemost* 2017;117(07):1440–1447.
100. Karpińska IA, Nowakowski T, Wypasek E, Plens K, Undas A. A prothrombotic state and denser clot formation in patients following acute limb ischemia of unknown cause. *Thromb Res* 2020;187:32–38.
101. Nowakowski T, Malinowski KP, Niżankowski R, Iwaniec T, Undas A. Restenosis is associated with prothrombotic plasma fibrin clot characteristics in endovascularly treated patients with critical limb ischemia. *J Thromb Thrombolysis* 2019;47(04):540–549.
102. Reddel CJ, Curnow JL, Voitl J, et al. Detection of hypofibrinolysis in stable coronary artery disease using the overall haemostatic potential assay. *Thromb Res* 2013;131(05):457–462.
103. Siegerink B, Meltzer ME, de Groot PG, Algra A, Lisman T, Rosendaal FR. Clot lysis time and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women; results from the RATIO casecontrol study. *Br J Haematol* 2012;156(02):252–258.
104. Neergaard-Petersen S, Ajjan R, Hvas AM, et al. Fibrin clot structure and platelet aggregation in patients with aspirin treatment failure. *PLoS One* 2013;8(08):e71150.
105. Tantry US, Bliden KP, Suarez TA, Kreutz RP, Dichiaro J, Gurbel PA. Hypercoagulability, platelet function, inflammation and coronary artery disease acuity: results of the Thrombotic Risk Progression (TRIP) study. *Platelets* 2010;21(05):360–367.
106. Gurbel PA, Bliden KP, Kreutz RP, Dichiaro J, Antonino MJ, Tantry US. The link between heightened thrombogenicity and inflammation: pre-procedure characterization of the patient at high risk for recurrent events after stenting. *Platelets* 2009;20(02):97–104.

107. Hou X, Han W, Gan Q, Liu Y, Fang W. Relationship between thromboelastography and long-term ischemic events as gauged by the response to clopidogrel in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Biosci Trends* 2017;11(02):209–213.
108. Neergaard-Petersen S, Larsen SB, Grove EL, Kristensen SD, Ajjan RA, Hvas AM. Imbalance between fibrin clot formation and fibrinolysis predicts cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2020;120(01):75–82.
109. Anzej S, Bozic M, Antovic A, et al. Evidence of hypercoagulability and inflammation in young patients long after acute cerebral ischaemia. *Thromb Res* 2007;120(01):39–46.
110. Undas A, Podolec P, Zawilska K, et al. Altered fibrin clot structure/function in patients with cryptogenic ischemic stroke. *Stroke* 2009;40(04):1499–1501.
111. Vucković BA, Djerić MJ, Ilić TA, et al. Fibrinolytic parameters, lipid status and lipoprotein(a) in ischemic stroke patients. *Srp Arh Celok Lek* 2010;138(Suppl 1):12–17.
112. Wang B, Li XQ, Ma N, et al. Association of thrombelastographic parameters with post-stenting ischemic events. *J Neurointerv Surg* 2017;9(02):192–195.
113. Undas A, Nowakowski T, Cieśla-Dul M, Sadowski J. Abnormal plasma fibrin clot characteristics are associated with worse clinical outcome in patients with peripheral arterial disease and thromboangiitis obliterans. *Atherosclerosis* 2011;215(02):481–486.
114. Okraska-Bylica A, Wilkosz T, Słowik L, Bazanek M, Koniecznyńska M, Undas A. Altered fibrin clot properties in patients with premature peripheral artery disease. *Pol Arch Med Wewn* 2012;122(12):608–615.
115. Orfeo T, Gissel M, Butenas S, Undas A, Brummel-Ziedins KE, Mann KG. Anticoagulants and the propagation phase of thrombin generation. *PLoS One* 2011;6(11):e27852.
116. Morishima Y, Honda Y. A direct oral anticoagulant edoxaban accelerated fibrinolysis via enhancement of plasmin generation in human plasma: dependent on thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J Thromb Thrombolysis* 2019;48(01): 103–110.
117. Franchi F, Rollini F, Garcia E, et al. Effects of edoxaban on the cellular and protein phase of coagulation in patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel: results of the EDOX-APT study. *Thromb Haemost* 2020;120(01):83–93.

118. Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD, et al; ATLAS ACS 2–TIMI 51 Investigators. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012;366(01):9–19.
119. Alexander JH, Lopes RD, James S, et al; APPRAISE-2 Investigators. Apixaban with antiplatelet therapy after acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2011;365(08):699–708.
120. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, et al; COMPASS Investigators. Rivaroxaban with or without aspirin in stable cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2017;377(14):1319–1330.
121. Coppens M, Weitz JI, Eikelboom JWA. Synergy of dual pathway inhibition in chronic cardiovascular disease. *Circ Res* 2019;124 (03):416–425.
122. Ammollo CT, Semeraro F, Incampo F, Semeraro N, Colucci M. Dabigatran enhances clot susceptibility to fibrinolysis by mechanisms dependent on and independent of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *J Thromb Haemost* 2010;8(04):790–798.
123. Königsbrügge O, Weigel G, Quehenberger P, Pabinger I, Ay C. Plasma clot formation and clot lysis to compare effects of different anticoagulation treatments on hemostasis in patients with atrial fibrillation. *Clin Exp Med* 2018;18(03):325–336.
124. Salta S, Papageorgiou L, Larsen AK, et al. Comparison of antithrombin-dependent and direct inhibitors of factor Xa or thrombin on the kinetics and qualitative characteristics of blood clots. *Res Pract Thromb Haemost* 2018;2(04):696–707.
125. Franchi F, Rollini F, Cho JR, et al. Effects of dabigatran on the cellular and protein phase of coagulation in patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel. Results from a prospective, randomised, doubleblind, placebo-controlled study. *Thromb Haemost* 2016;115 (03):622–631.
126. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al; RE-LY Steering Committee and Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009;361(12): 1139–1151.
127. Oldgren J, Budaj A, Granger CB, et al; RE-DEEM Investigators. Dabigatran vs. placebo in patients with acute coronary syndromes on dual antiplatelet therapy: a randomized, doubleblind, phase II trial. *Eur Heart J* 2011;32(22):2781–2789.
128. Uchino K, Hernandez AV. Dabigatran association with higher risk of acute coronary events: meta-analysis of noninferiority randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2012;172(05):397–402.