Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – SP
Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica

Carlos Augusto Schreiner

Avaliação de marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência

Ribeirão Preto – São Paulo
2022

CARLOS AUGUSTO SCHREINER

Avaliação de marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do Título de Mestre.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica
Orientador: Prof. Dr. Maurício Serra Ribeiro

Ribeirão Preto – São Paulo
2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo, informação e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Schreiner, Carlos Augusto

Avaliação de marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência

73 p.: il.;

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre. Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Serra Ribeiro

1. Varizes. 2. Safena Magna. 3. Cirurgia Variz. 4.*Stripping* da Safena Magna. 5. Radiofrequência. 5. Termoablação Endovenosa. 6. *EHIT*. 7. Trombose Venosa. 8.P-selectina. 9. Complexo Trombina-Antitrombina. 10. ICAM-1. 11. VCAM-1.2. Fator de von Willembrand

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SCHREINER, Carlos Augusto

Título: Avaliação de marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, junto ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: _____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Julgamento: _____
Instituição: _____Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento: _____
Instituição: _____Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento: _____
Instituição: _____Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento: _____
Instituição: _____Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Julgamento: _____
Instituição: _____Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Édio e Sueli, minha fonte diária de inspiração, sabedoria, exemplos, honestidade e conselhos. Sem eles nada disso teria acontecido.

As minhas irmãs Poliana e Luana, que sempre me apoiaram e comemoraram minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, saúde, por iluminar meu caminho e pelas conquistas diárias.

À minha família: minha mãe, meu pai e minhas irmãs por todo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho e por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Maurício Serra Ribeiro, pelo incentivo, por acreditar em mim e pelo exemplo de profissionalismo e dedicação. Sem o Professor Maurício nada disso seria possível.

Aos meus mestres que me ensinaram sobre Cirurgia Vascular e Endovascular no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

À Prof. Dra. Christiane Becari - que tanto me auxiliou na execução do trabalho, na análise e interpretação dos resultados - agradeço a confiança e paciência com o meu aprendizado.

A todos os profissionais e alunos do Laboratório de Doenças Cardiovasculares e Função Endotelial do Departamento de Cirurgia e Anatomia da FMRP/USP, agradeço a paciência e ajuda nas dosagens e leituras das amostras.

A todos os profissionais do Hospital Estadual Américo Brasiliense, agradeço pela cessão do espaço para esta pesquisa, aquisição do material necessário e pelo apoio através do recurso humano no ambulatório, na coleta, no armazenamento das amostras, na realização dos exames de imagem.

Agradeço a CAPES (o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001) e a FAPESP pelo incentivo e financiamento à pesquisa (FAPESP (2019/11485-1).

E finalmente aos pacientes, que disponibilizaram seu tempo e confiaram sua saúde neste projeto.

"O homem não é nada além daquilo que a educação faz dele."
Immanuel Kant

RESUMO

SCHREINER, C. A. **Avaliação de marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência.** 2022. 73 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introdução: o tratamento cirúrgico convencional das veias safenas incompetentes é a ligadura cirúrgica e remoção da veia afetada. Entre as técnicas mais recentes de tratamento e com grau IA de evidência citamos as termoablações endovenosas, uma técnica minimamente invasiva que provoca lesão endotelial e inflamação local, obliterando a veia. Estudos sobre os fatores de risco para a ocorrência de trombose em cirurgia de varizes já foram realizados, porém dados ainda são escassos sobre o papel de marcadores séricos de hipercoagulabilidade. **Objetivo:** investigar marcadores séricos de inflamação, trombose e moléculas de adesão no tratamento da insuficiência da veia safena magna pelas técnicas cirúrgica convencional e termoablação por radiofrequência. **Materiais e Métodos:** selecionamos 35 pacientes com varizes de membros inferiores e indicação de tratamento cirúrgico da veia safena magna, divididos em 2 grupos: um submetido à termoablação endovenosa por radiofrequência da veia safena magna e o outro à cirurgia convencional. Após o procedimento, foram submetidos à ultrassonografia dúplex em até 7 dias e em 1 mês. Coleta de amostras de sangue feitas antes, em 7 dias e 30 dias do procedimento. Avaliação dos níveis de mediadores inflamatórios como ICAM-1, VCAM-1, Fator de von Willebrand, P-selectina solúvel, potencial endógeno de trombina foram investigados em comparados entre a abordagem convencional e a radiofrequência. **Resultados:** a idade média dos participantes foi de 50 ± 12 anos com 27 (77,1%) pacientes sendo do sexo feminino. O Índice de Massa Corpórea (IMC) médio foi de 28 ± 6 Kg/m² sem diferença estatística entre os grupos. A comorbidade mais frequente foi a hipertensão arterial sistêmica, 11 (31,4%) pacientes, com distribuição homogênea, três pacientes (12,5%) apresentaram EHIT classe II. Na avaliação da atividade inflamatória sistêmica, leucograma e contagem de plaquetas, em nenhum dos tempos há diferenças significativas entre os grupos e em relação à avaliação da trombina, lesão endotelial, adesão e ativação plaquetária e de células inflamatórias não observamos nenhuma diferença significativa, seja na avaliação intragrupo, seja na avaliação intergrupos. **Conclusão:** no pós-operatório da termoablação, não há diferença na ativação na geração de trombina, lesão endotelial ou ativação de moléculas de adesão em relação à safenectomia.

Palavras-chave: 1. Varizes. 2. Safena Magna. 3. Cirurgia Variz. 4. *Stripping* da Safena Magna. 5. Radiofrequência. 6. Termoablação Endovenosa. 7. *EHIT*. 8. Trombose Venosa. 9.P-selectina. 10. Complexo Trombina-Antitrombina. 11. ICAM-1. 12. VCAM-1. 13. Fator de von Willebrand

ABSTRACT

SCHREINER, C. A. **Evaluation of serum markers of inflammation, thrombosis and adhesion molecules in the treatment of great saphenous vein insufficiency by conventional surgical techniques and radiofrequency thermal ablation.** 2022. 91 f. Master's (Dissertation) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Introduction: the standard surgical treatment for incompetent saphenous veins is surgical ligation and removal of the affected vein. The endovenous thermal ablation is one of the recent endovenous treatments to great saphenous reflux with grade IA of recommendation. Endovenous thermal ablation is a minimally invasive technique that causes endothelial damage and local inflammation obliterating the target vein. Some studies on the risk factors for the occurrence of thrombosis in varicose vein surgery have already been carried out, but data are still scarce on the actual role of serum markers of hypercoagulability. **Objective:** To investigate serum markers of inflammation, thrombosis and adhesion molecules in treating great saphenous vein insufficiency by conventional surgical techniques and radiofrequency thermal ablation. **Materials and methods:** We selected 35 patients with varicose veins in the lower limbs with the indication for surgical treatment of the great saphenous vein. The patients were divided into two groups, one group undergoing radiofrequency endovenous thermal ablation of the great saphenous vein and the other group undergoing conventional surgery. All patients underwent duplex ultrasonography within seven days, within one month. Blood samples were collected before the procedure, at seven days and 30 days after the procedure. Evaluation of the levels of inflammatory mediators such as ICAM, VCAM, von Willebrand factor, soluble P-selectin, endogenous thrombin potential was investigated in comparisons between the conventional approach and radiofrequency. **Results:** The mean age of participants was 50 ± 12 years, with 27 (77.1%) patients being female. The mean Body Mass Index (BMI) was 28 ± 6 kg/m² with no statistical difference between the groups. The most frequent comorbidity was systemic arterial hypertension; 11 (31.4%) patients with homogeneous distribution, three patients (12.5%) had class II EHIT. In the assessment of systemic inflammatory activity, WBC and platelet count, there were no significant differences between the groups at any of the times. Again, there was no significant difference in the assessment of thrombin generation and endothelial adhesion molecules, either in the intragroup or in the intergroup assessment. **Conclusion:** in the postoperative period, there is no difference in activation in the generation of thrombin generation, endothelial injury or activation of adhesion molecules between radiofrequency thermal ablation and stripping of the great saphenous vein**.**

Keywords: Varicose veins. Great Saphenous Vein. Varicose Surgery. Great Saphenous Vein Stripping. Radiofrequency Endovenous Thermal Ablation. EHIT. Venous Thrombosis. P-selectin. Thrombin/Antithrombin Complex. ICAM-1. VCAM-1. von Willebrand factor

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 – Síntese das avaliações, biomarcadores e métodos de dosagem 36
Tabela 2 – Características clínicas de 35 pacientes tratados por técnica cirúrgica convencional (*stripping*) ou ablação térmica por radiofrequência (RFA) 41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Sistema ClosureFAST 17
Figura 2 – Posicionamento e mecanismo de ação sistema ClosureFAST 18
Figura 3 – Classes do EHIT conforme extensão do Trombo para Junção Safeno-Femoral 19
Figura 4 – Formação do complexo de Trombina-Antitrombina 23
Figura 5 – Fator de von Willebrand forma uma ponte entre fibras de colágeno e a glicoproteína GPIb na superfície das plaquetas, promovendo adesão, ativação e consequente agregação plaquetária 24
Figura 6 – A P-selectina é armazenada nas células endoteliais e nas plaquetas dentro dos grânulos WPb e alfa. Após a ativação, esses grânulos de secreção translocam para a superfície onde a P-selectina é incorporada à membrana plasmática intraluminal 25
Figura 7 – Leucócitos ligando-se às moléculas de Selectina expressas na superfície das células endoteliais via molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) 26
Figura 8. A VCAM-1 foi originalmente identificada como uma molécula de adesão celular que ajuda a regular a adesão vascular associada à inflamação e a migração transendotelial de leucócitos, como macrófagos e células T. 26
Figura 9 – Desenho de estudo e suas etapas 31
Figura 10 – Inguinotomia e ramos da croça durante a abordagem da cirurgia convencional 32
Figura 11 – Extrusão do fleboextratator na incisão inguinal 32
Figura 12 – Extrusão do fleboextratator na incisão distal em perna proximal 33
Figura 13 – Punção para acesso a veia safena com introdutor de 7Fr. Passagem e posicionamento da fibra de Radiofrequência guiada por ultrassom e imagem de ultrassom após a termoablação 34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comparação do leucograma entre os grupos nos diversos tempos ... 42
Gráfico 2. Comparação da contagem de plaquetas entre os grupos nos diversos tempos 43
Gráfico 3. Comparação da dosagem do complexo trombina / antitrombina entre os grupos nos diversos tempos 43
Gráfico 4. Comparação dos níveis de P-selectina entre os grupos nos diversos tempos 44
Gráfico 5. Comparação dos níveis do ICAM-1 entre os grupos nos diversos tempos 45
Gráfico 6. Comparação dos níveis do VCAM-1 entre os grupos nos diversos tempos 45
Gráfico 7. Comparação dos níveis do Fator de von Willebrand entre os grupos nos diversos tempos 46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVF - American Venous Forum

ANOVA – Análise de Variância

BMI - Body Mass Index

CEAP - Classificação clínica da doença venosa - sinais clínicos [C], etiologia [E], anatomia [A] e fisiopatologia [P].

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid

EHIT - Endovenous heat-induced thrombus

ELISA - Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FMRP/USP - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

FVIII – fator VIII

FvW- Fator de von Willebrand

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HEAB - Hospital Estadual de Américo Brasiliense do complexo HCRP-FAEPA

HCFMRP-USP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

ICAM - Molécula de Adesão Intercelular-1

IMC - Índice de Massa Corpórea

RFA - Ablação térmica por radiofrequência

rVCSS - Revised Venous Clinical Severity Score

SBACV - Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular

SFN – Safenectomia

sVWf - Antígeno do Fator de von Willebrand solúvel

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TAT - Complexo Trombina-Antitrombina

TEV - Tromboembolismo Venoso

TEP - Tromboembolismo pulmonar

TVP – Trombose Venosa Profunda

US – Ultrassom

VCAM - Molécula de Adesão de Célula Vascular-1

VCSS - Venous Clinical Severity Score

VSM – Veia Safena Magna

WBC - White blood cells

WPB - Corpos Weibel-Palade

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO *16*
2- OBJETIVO *28*
2.1. Geral **28**
2.2. Específico **28**
3- MATERIAIS E MÉTODOS *30*
3.1 Participantes: **30**
3.2 Critério de inclusão: **30**
3.3 Critérios de exclusão: **31**
3.4 Técnica Cirúrgica **32**
3.4.1 Safenectomia magna por cirurgia convencional - *Stripping* **32**
3.4.2 Termoablação por Radiofrequência (*RFA*) **33**
3.5 Coleta do Material: **34**
3.6 Armazenamento do Material: **35**
3.7.1. Técnicas de dosagem: **35**
3.7.2. Dosagem Complexo Trombina-Antitrombina **35**
3.7.3. Dosagem P-Selectina Solúvel **35**
3.7.4. Dosagem do Antígeno do Fator de von Willebrand **36**
3.7.5. Dosagem Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1) **36**
3.7.6. Dosagem Molécula de Adesão de Célula Vascular-1 (VCAM-1) **36**
3.7.7. Dosagem P-Selectina Solúvel **36**
4- ANÁLISE ESTATÍSTICA *38*
5- RESULTADOS *40*
5.1 Resultados demográficos e epidemiológicos **40**
5.2. Análise Laboratorial **42**
6- DISCUSSÃO *48*
7- CONCLUSÃO *53*
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *55*
Apêndice A *62*
Apêndice B *65*
Apêndice C *66*
Apêndice D *71*
Apêndice E *72*

INTRODUÇÃO

1- INTRODUÇÃO

Varizes são veias dilatadas maiores que 3mm de diâmetro, tortuosas, alongadas e que apresentam alteração funcional (refluxo). O tratamento cirúrgico convencional de varizes é a ligadura cirúrgica e remoção da veia afetada. Embora os resultados cirúrgicos tenham melhorado nas últimas décadas por conta da maior compreensão da anatomia venosa da extremidade inferior, a taxa de insucesso com esta abordagem encontra-se entre 20% e 30%. (KOSTAS *et al.*, 2007; ALLEGRA *et al.*, 2007) devido principalmente às recidivas tardias. Além disso, o tratamento cirúrgico convencional geralmente necessita de várias semanas de recuperação para o retorno às atividades normais.

Em resposta à necessidade de uma abordagem menos invasiva, numerosos tratamentos endovenosos surgiram ao longo dos últimos anos, entre os quais destacamos as técnicas de termoablação por radiofrequência e por laser endovenoso. Tratamento endovenoso, no que se refere às varizes, pode ser melhor definido como uma técnica minimamente invasiva, no qual posiciona-se um cateter intraluminal e se transfere energia para a veia-alvo, o que causa lesão endotelial, no intuito de provocar a obliteração venosa. Estes métodos demonstraram-se seguros e eficazes com melhor recuperação pós-operatória em relação à cirurgia convencional.

Atualmente, as técnicas termoablativas tem grau de evidência IA de recomendação nas diretrizes da Sociedade Europeia de Cirurgia Vascular (WITTENS *et al.*, 2015,) e grau de evidência IB nas diretrizes do *American Venous Forum* (RAUTIO *et al.*, 2002; NAVARRO, 2002; GLOVICZKI *et al.*, 2011).

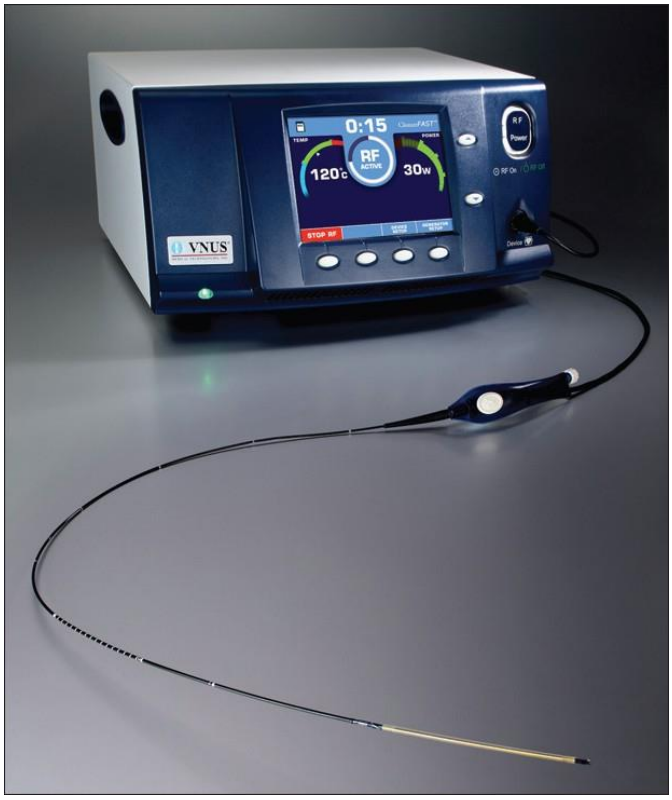
TERMOABLAÇÃO POR RADIOFREQUÊNCIA

Radiofrequência é uma tecnologia minimamente invasiva que oferece tratamento eficaz do refluxo venoso da veia safena magna. Os pacientes podem ser tratados ambulatorialmente inclusive sob anestesia local tumescente, o que permite a deambulação precoce, menor desconforto e tempo de inatividade, reduzindo também o risco de possíveis complicações tromboembólicas.

Esta técnica consiste num método de "ablação segmentar" da veia safena. O sistema disponível no Brasil atualmente é o ClosureFAST (VNUS Medical Technologies, Inc., San Jose, CA) concebido para tratamento da veia safena magna

e da veia safena parva. O cateter ClosureFAST tem um eletrodo bipolar de 7 cm de comprimento afixado à sua extremidade distal por onde energia é liberada (vide figura 1)

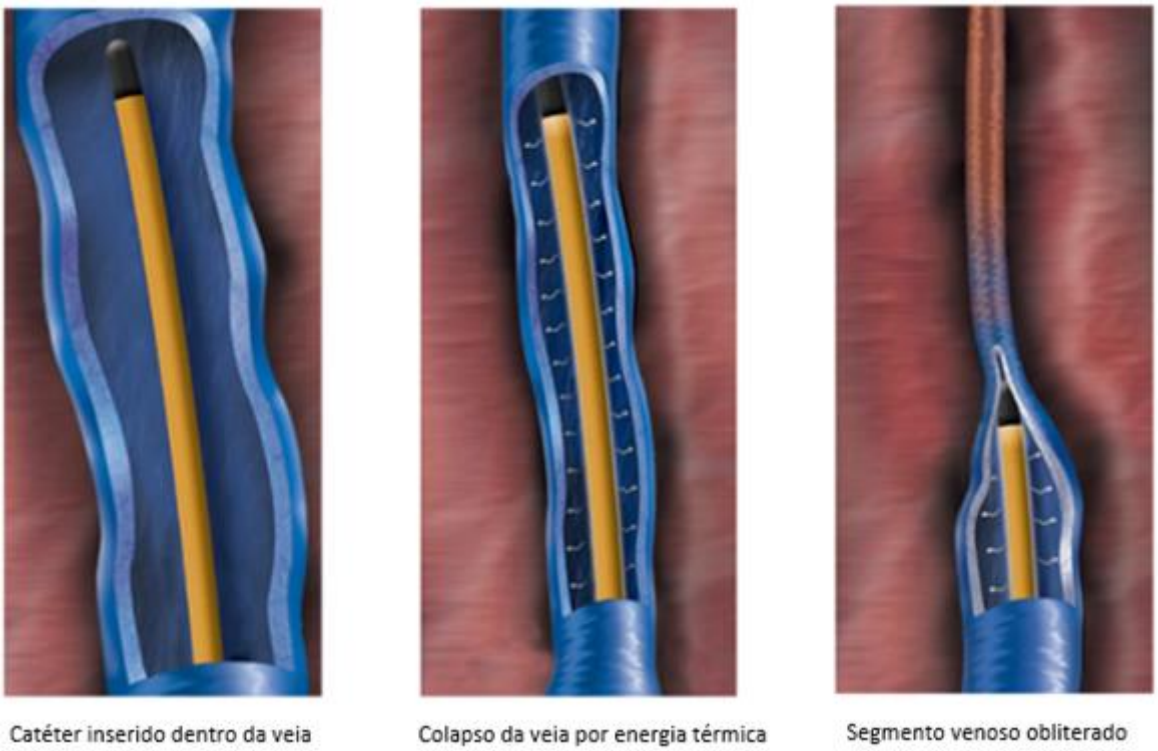
Figura 1 – Sistema ClosureFAST (VNUS Medical Technologies, Inc., San Jose, CA)



Fonte: Göckeritz (2012).

O eletrodo deve estar em contato direto com a parede da veia para transmitir a energia necessária para a obliteração da veia. O mecanismo de ação é a destruição do endotélio, oclusão por deposição colágena na parede da veia e formação de trombos intraluminais (WEISS; FEIED; WEISS, 2001). Por fim, ocorre fibrose da parede veia, como também a formação de uma nova matriz de colágeno, que contrai ainda mais a luz e provoca a sua oclusão (figura 2). (WEISS; FEIED; WEISS, 2001).

Figura 2 – Posicionamento e mecanismo de ação sistema ClosureFAST



Fonte: MEDTRONIC (2021)

As complicações pós-operatórias são limitadas, sendo mais comuns a tromboflebite superficial e lesão térmica da pele.

TROMBOSE VENOSA PROFUNDA PÓS-OPERATÓRIA

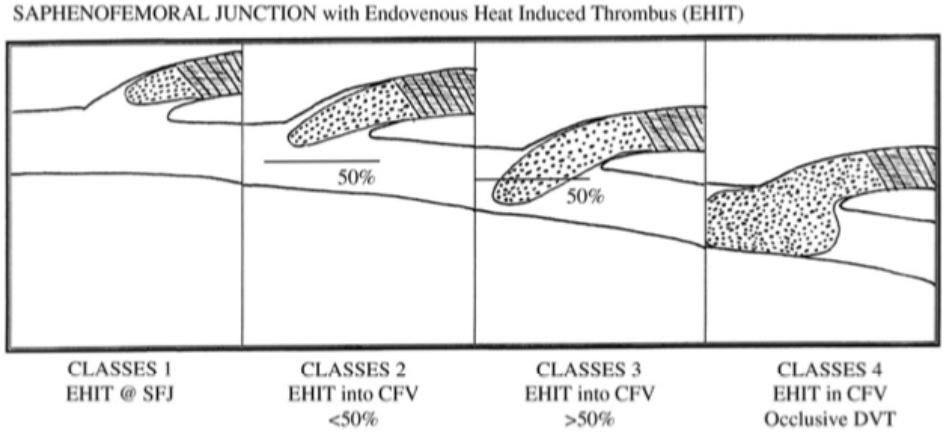
Apesar de incomum, uma das mais preocupantes complicações da termoablação endovenosa é a trombose venosa profunda (TVP), secundária a extensão de trombo além do segmento da veia tratada (HINGORANI *et al.*, 2004; MOZES *et al*., 2005). As técnicas termoablativas, ao contrário da safenectomia, atuam através de lesão endotelial direta e, intuitivamente, seriam mais propensas a ativar mecanismos pró-trombóticos.

Vários sistemas de classificação e tratamento foram propostos para ajudar a diagnosticar e tratar pacientes que apresentam propagações totais ou parciais da trombose para o sistema venoso profundo (KABNICK *et al.*, 2006; LAWRENCE *et al.*, 2010). Em 2006, Kabnick e colaboradores descreveram uma classificação para a trombose induzida pelo calor (*endovenous heat-induced thrombus- EHIT*) que se utiliza da ultrassonografia para a determinação da extensão da trombose indesejada,

secundária ao procedimento de termoablação. Recentemente, o *American Venous Forum e a Society for Vascular Surgery* uniformizaram a classificação e conduta dos eventos trombóticos (KABNICK *et al.*, 2006; LAWRENCE *et al*., 2010; KABNICK *et al*., 2021). Dessa forma, a classificação atual descreve 4 classes (figura 3) de trombose induzida pelo calor (*American Venous Forum Endovenous Heat-Induced Thrombus* - AVF EHIT classification) que podem ser diagnosticadas pela ultrassonografia (KABNICK *et al*., 2021):

- Classe 1, quando o trombo se estende até a junção safeno-femoral, sem ultrapassá-la;
- Classe 2, quando o trombo se estende para a veia femoral, porém ocupando menos de 50% de seu diâmetro transversal;
- Classe 3, quando o trombo se estende para a veia femoral e ocupa mais que 50% de seu diâmetro transversal;
- Classe 4, quando ocorre a oclusão completa da veia pela trombose.

Figura 3 – Classes do EHIT conforme extensão do Trombo para Junção Safeno-Femoral



Fonte: Frasier; Latessa (2008).

Os estudos clínicos randomizados e metanálises não mostram diferenças significativas na incidência de trombose venosa entre a safenectomia e as técnicas de radiofrequência e endolaser (RASMUSSEN *et al.*, 2013).

Healy *et al.* (2018) mostraram uma incidência de 1-2% de complicações trombóticas enquanto outros mostram uma incidência ainda maior como, por exemplo, uma série retrospectiva de 519 veias safenas magnas tratadas cuja incidência de EHIT foi de até 4 %, com predisposição ao sexo masculino e uma possível correlação

com trombofilia. (RHEE *et al.*, 2013). Outras possíveis variáveis para a ocorrência do EHIT são a técnica cirúrgica, diâmetro da veia, idade e flebectomias concomitantes (SUFIAN *et al.*, 2015).

POTENCIAIS MARCADORES SÉRICOS DE RISCO TROMBOEMBÓLICO

O tromboembolismo venoso (TEV) inclui duas condições frequentes, que são a trombose venosa profunda (TVP) e o tromboembolismo pulmonar (TEP). Como notório, é um grave problema de saúde devido a altas taxas de recorrência à sua alta morbimortalidade, sendo a causa de morte evitável mais comum no paciente hospitalizado.

Pouco se sabe sobre a ação ou ativação das técnicas termoablativas na cascata de coagulação ou em outros fatores moleculares pró-trombóticos (LURIE; KISTNER, 2013; HEERE-RESS *et al.*, 2011). A busca por biomarcadores que permitam a identificação de predisposições ou melhora nas técnicas diagnósticas do TEV atualmente é o objetivo de inúmeras pesquisas em especial no campo da oncologia. Alguns destes marcadores já estão bem estabelecidos e amplamente investigados: parâmetros de análise de leucograma e contagem de plaquetas se mostraram úteis na predição de risco de tromboembolismo venoso. Associações entre níveis elevados de dímeros-D, fragmentos de protrombina 1+2, P-selectina solúvel, fator VIII da coagulação e potencial endógeno de geração de trombina e risco de TEV já foram reportados por autores (PABINGER; THALER; AY, 2013). Testes quantitativos de geração de trombina ao longo de um tratamento, quantificando o *status* hemostático dos pacientes e medindo o efeito cumulativo das tendências pró-trombóticas (DIELIS *et al.*, 2008), podem ser potencialmente valiosos para a previsão da ocorrência e recorrência do TEV ao identificar aqueles que podem se beneficiar da anticoagulação a longo prazo. Outros ainda, como as citocinas inflamatórias são alvo de controvérsias no seu real papel no tromboembolismo venoso (PABINGER; AY, 2009).

Do ponto de vista clínico, seria extremamente útil dispor de biomarcadores que permitissem a identificação precoce de pacientes com alto risco de TEV e, no caso de procedimentos cirúrgicos, permitiriam uma conduta mais segura, customizada a cada situação e baseada em evidências. O uso das novas tecnologias, por exemplo, no campo da cirurgia vascular, poderia ser feito de forma mais racional, segura e de forma mais custo-efetiva.

A profilaxia de TEV em cirurgia de varizes também é alvo de controvérsias e ainda não está bem estabelecida. Muitas vezes os critérios para sua indicação ficam a critério da experiência pessoal do cirurgião. Segundo o Projeto Diretrizes da Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular – SBACV (SBACV, 2015), a profilaxia medicamentosa está indicada apenas para casos de alto risco tromboembólico, como em doentes com TVP ou TEP prévios, trombofilia, idosos e portadores de câncer. Deve-se fazer uma estratificação individual de cada paciente. No entanto, sabemos que ainda é difícil uma avaliação mais acurada do risco trombótico em alguns casos. O escore de Caprini (PANNUCCI *et al.*, 2017) é uma ferramenta útil que pode ser utilizada nesse contexto, porém são escassos os estudos bem elaborados de tromboprofilaxia em cirurgia vascular venosa.

O fato é que, atualmente, ainda não existe um consenso sobre profilaxia antitrombótica para cirurgia de varizes, tanto para os procedimentos convencionais quanto para os tratamentos termoablativos. Desta forma, o tipo e a duração da tromboprofilaxia nesse grupo de pacientes é altamente variável e fica à mercê da experiência pessoal de cada profissional, conforme mostram pesquisas recentes inclusive da própria SBACV (SBACV, 2015). Há a necessidade de um modelo de estratificação de risco que se concentre em fatores de risco diretamente relevantes para pacientes com varizes (NYAMEKYE, 2018). Marcadores de trombose venosa podem, eventualmente, auxiliar na conduta clínica se tornarem-se confiáveis e disponíveis na prática clínica.

Como citado anteriormente, potenciais biomarcadores pró-trombóticos estão sendo investigados por sua capacidade de predizer TEV durante o curso de doenças oncológicas e alguns protocolos de profilaxia de TEV e anticoagulação estão sendo repensados para este grupo de pacientes, nas quais estes marcadores mostram-se ativados (PABINGER; THALER; AY, 2013). Existem alguns estudos sobre os fatores de risco clínicos e do procedimento em si para a ocorrência de trombose em técnicas de termoablação endovenosa, porém os dados ainda são escassos sobre o real papel de marcadores séricos de hipercoagulabilidade como os já citados.

Neste estudo, nos propomos a comparar ativação de vias moleculares pró-trombóticas nos indivíduos submetidos à safenectomia e termoablação por radiofrequência (RFA) através da comparação do hemograma e de ensaios laboratoriais que avaliam a formação de trombina e dosagem sérica das formas solúveis das moléculas de adesão e ativação plaquetária. Procuramos desta forma

avaliar, a nível molecular, se os achados são compatíveis com os dados de trombose venosa dos estudos clínicos e - eventualmente - identificar marcadores séricos que poderiam ser úteis na avaliação de risco tromboembólico perioperatório.

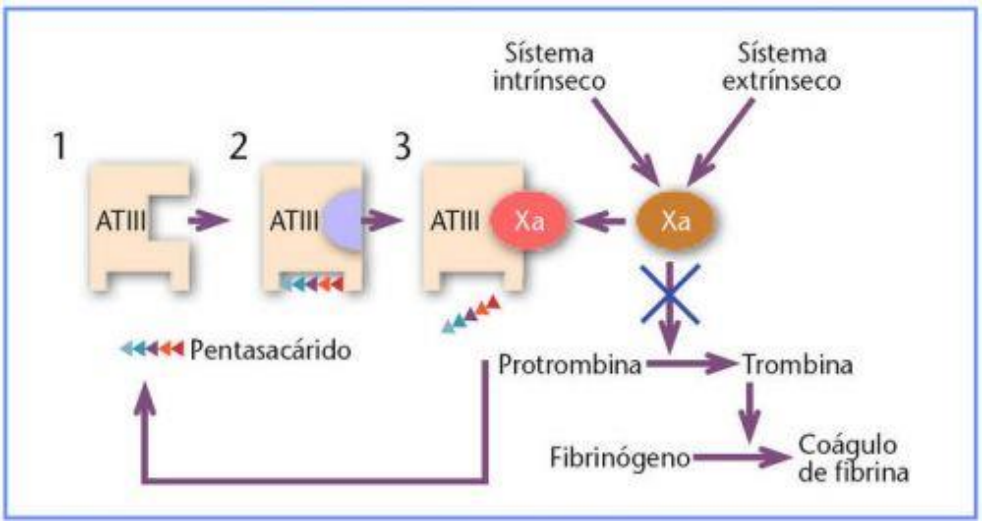
1.1. Contagem de leucócitos e plaquetas

Khorana e cols. (2008) demonstraram que, em pacientes com câncer, a leucocitose está associada a um aumento do risco de TEV em pelo menos duas vezes. Neste estudo, a contagem absoluta elevada de neutrófilos e monócitos, mas não a linfocitose esteve associada ao aumento do risco de TEV (KHORANA *et al.*, 2008). Da mesma forma, a trombocitose também está correlacionada com TEV conforme relatado em vários estudos. Porém, os mecanismos subjacentes que ligam as contagens elevadas de plaquetas ao TEV relacionado ao câncer ainda não são claros (NASH *et al.*, 2002).

1.2. Complexo Trombina-Antitrombina (TAT)

A avaliação da ativação da coagulação é essencial para avaliar estados hipercoaguláveis (pré-trombóticos) e trombóticos. Durante a reação na cascata de coagulação sanguínea o fator Xa cliva a protrombina, o que resulta na geração de trombina. Essa serina protease pode ser rapidamente neutralizada pela antitrombina, com a formação do complexo inativo de Trombina-Antitrombina (DEGUCHI *et al.*, 1991). A trombina-antitrombina é formada em resposta ao alto nível de trombina causado pela coagulação. Como a trombina é rapidamente ligada à antitrombina, a TAT é uma boa medida para o nível de trombina no sangue.

Figura 4 – Formação do complexo de Trombina-Antitrombina

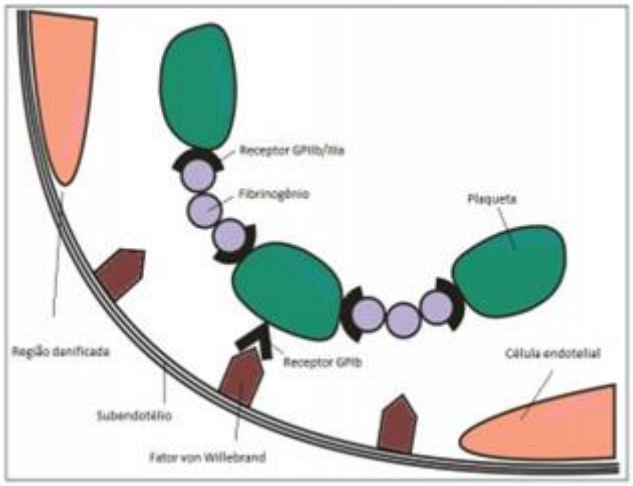


Fonte: Ribeiro *et al*. (1997)

1.3. Fator de von Willebrand (FvW)

O Fator VIII elevado (FVIII) é um fator de risco bem estabelecido para a primeira manifestação e a recorrência de TEV em pacientes sem câncer (KOSTER *et al.*, 1995; KYRLE *et al.*, 2000; COSMI *et al.*, 2008). Níveis consistentemente elevados de Fator VIII foram considerados fator de risco para TEV primário em estudos caso-controle. Parece que o aumento do risco não é linear, mas está presente apenas quando o Fator VIII excede um determinado nível de aproximadamente 230% a 250% (KYRLE *et al.*, 2000). A molécula do Fator de von Willebrand é produzida pelos megacariócitos e pelas células endoteliais e, quando ativado, atua na adesão plaquetária. No plasma, o Fator de von Willebrand e o Fator VIII circulam mantidos por ligações não-covalentes formando complexos constituído por 99% de FvW e 1% de FVIII. Sua deficiência qualitativa ou quantitativa ocasiona manifestações hemorrágicas. Por outro lado, níveis elevados causam maior risco de formação de trombos. (MANNUCCI, 2004).

Figura 5 – Fator de von Willebrand forma uma ponte entre fibras de colágeno e a glicoproteína GPIb na superfície das plaquetas, promovendo adesão, ativação e consequente agregação plaquetária

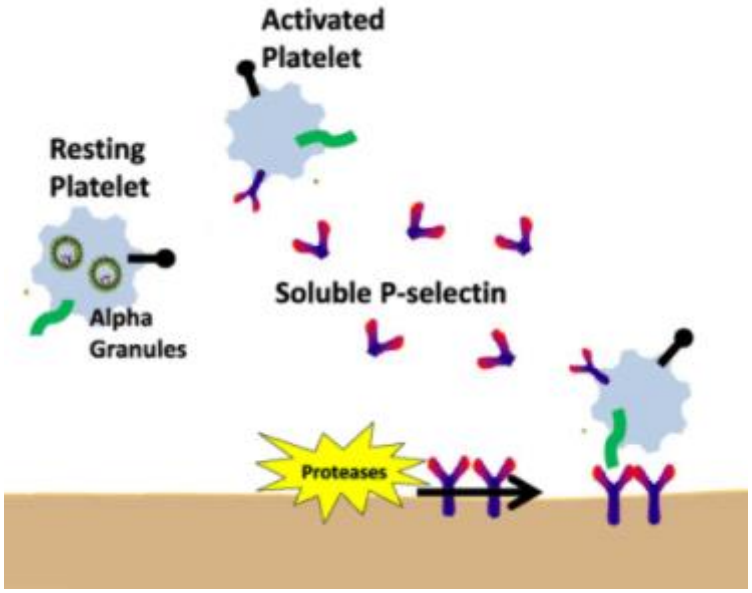


Fonte: Rosset (2013).

1.4. P-selectina solúvel

A P-selectina é um membro da família das Selectinas de moléculas de adesão celular. É liberada a partir dos grânulos α (alfa) das plaquetas ativadas e dos corpos Weibel-Palade (WPb) das células endoteliais (FMIJNHEER *et al.*, 1997). A P-selectina desempenha um papel crucial na trombogênese e induz um estado protrombótico (PABINGER; AY, 2009). Foram observados níveis elevados de P-selectina em pacientes com TEV agudo e associados ao risco de TEV em pacientes sem câncer (BLANN; NOTEBOOM; ROSENDAAL, 2000; GREMMEL *et al.*, 2011; AY *et al.*, 2007). As evidências de estudos básicos e clínicos demonstram que a P-selectina é um biomarcador que possui claramente propriedades pró-coagulantes e reflete um estado pró-trombótico em seres humanos.

Figura 6 – A P-selectina é armazenada nas células endoteliais e nas plaquetas dentro dos grânulos WPb e alfa. Após a ativação, esses grânulos de secreção translocam para a superfície onde a P-selectina é incorporada à membrana plasmática intraluminal

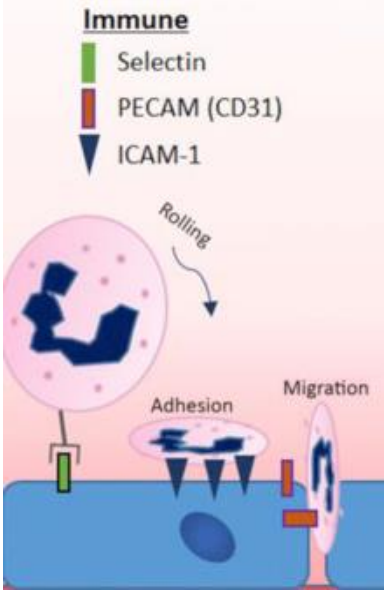


Fonte: Schutzman *et al*. (2018).

1.5. Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1)

A ICAM-1 é uma molécula intercelular de adesão. É produzida por células endoteliais, leucócitos, fibroblastos e células epiteliais. A ativação endotelial promove a expressão de moléculas específicas de contato a fim de que ocorra a adesão de células inflamatórias. Para que haja adesão firme das plaquetas, é necessária a ligação de moléculas de adesão, como a ICAM-1. Seus níveis estão aumentados em condições como angina e doenças arteriais periféricas.

Figura 7 – Leucócitos ligando-se às moléculas de Selectina expressas na superfície das células endoteliais via molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1)



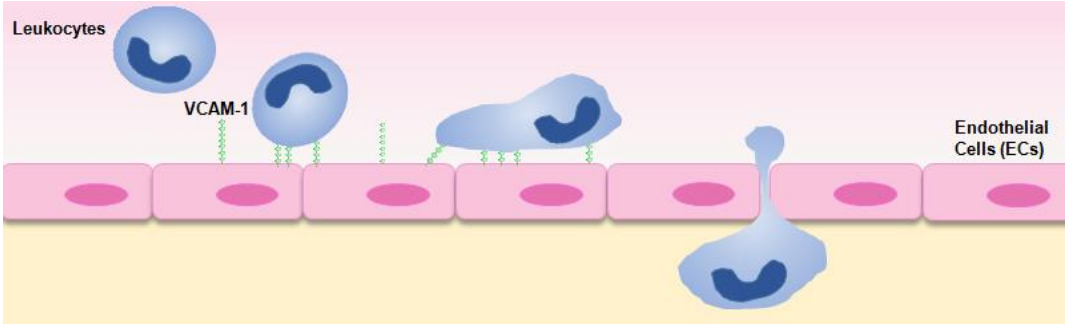
Fonte: Jang; L'Hortet; Soto-Gutierrezy (2019)

1.6. Molécula de Adesão de Célula Vascular-1 (VCAM-1)

Consiste em uma molécula de adesão vascular produzida pelas células endoteliais. Seus níveis estão aumentados em múltiplas condições cardiovasculares.

Quando ocorre ativação celular, após adesão e transmigração das células inflamatórias, isoformas solúveis destas moléculas são liberadas na circulação. Sua dosagem é considerada uma forma de obter informações sobre a inflamação do endotélio e a ativação da cascata de adesão in vivo. Níveis circulantes destas moléculas são consideradas como forma de avaliação indireta de disfunção endotelial.

Figura 8. A VCAM-1 foi originalmente identificada como uma molécula de adesão celular que ajuda a regular a adesão vascular associada à inflamação e a migração transendotelial de leucócitos, como macrófagos e células T.



Fonte: Kong *et al*. (2018).

OBJETIVO

2- OBJETIVO

2.1. Geral:

Comparar a ativação de vias moleculares pró-inflamatórias e pró-trombóticas nos indivíduos submetidos a termoablação endovenosa por radiofrequência e cirurgia convencional de varizes.

2.2. Específico:

Dosagem dos seguintes componentes celulares e séricos:

1. Leucograma e contagem de plaquetas.
2. Avaliação dos biomarcadores de trombose no sangue periférico:

- Geração de trombina (complexo trombina-antitrombina);
- Lesão endotelial (ICAM, VCAM e antígeno do Fator de von Willebrand);
- Ativação plaquetária (P-selectina solúvel).

MATERIAIS E MÉTODOS

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Participantes:

Um estudo tipo coorte prospectivo onde foram incluídos 35 indivíduos portadores de varizes de membros inferiores com indicação de tratamento cirúrgico, com refluxo total ou parcial da veia safena magna independentemente do grupo étnico, idade e sexo. A alocação dos pacientes foi realizada de forma sequencial para cirurgia convencional e para termoablação, até um total de 11 pacientes para cirurgia convencional (Safenectomia - SFN) e 24 para termoablação por Radiofrequência (RFA). Os pacientes foram analisados quanto às características clínicas seguindo uma ficha de entrevista (Apêndice A) com idade, sexo, índice de massa corporal (IMC), classificação de gravidade da insuficiência venosa pelo *Revised Venous Clinical Severity Score* (rVCSS) (Apêndice B), Classificação CEAP (Apêndice C).

Todos os participantes foram recrutados a partir de casos atendidos no Ambulatório Médico de Especialidades do Hospital Estadual de Américo Brasiliense do complexo HCRP-FAEPA pela equipe de Cirurgia Vascular. A coleta de amostras de sangue foi feita antes, em 7 dias, 30 dias do procedimento e foram submetidos à ultrassonografia dúplex em até 7 dias e em 1 mês para a detecção de EHIT ou trombose venosa profunda. Não foi realizada profilaxia farmacológica para tromboembolismo venoso em nenhum caso. O tempo de estudo total de cada paciente foi de 6 a 8 meses com a última consulta agendada 6 meses após a cirurgia.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP sob processo HCRP nº 2600/2017.

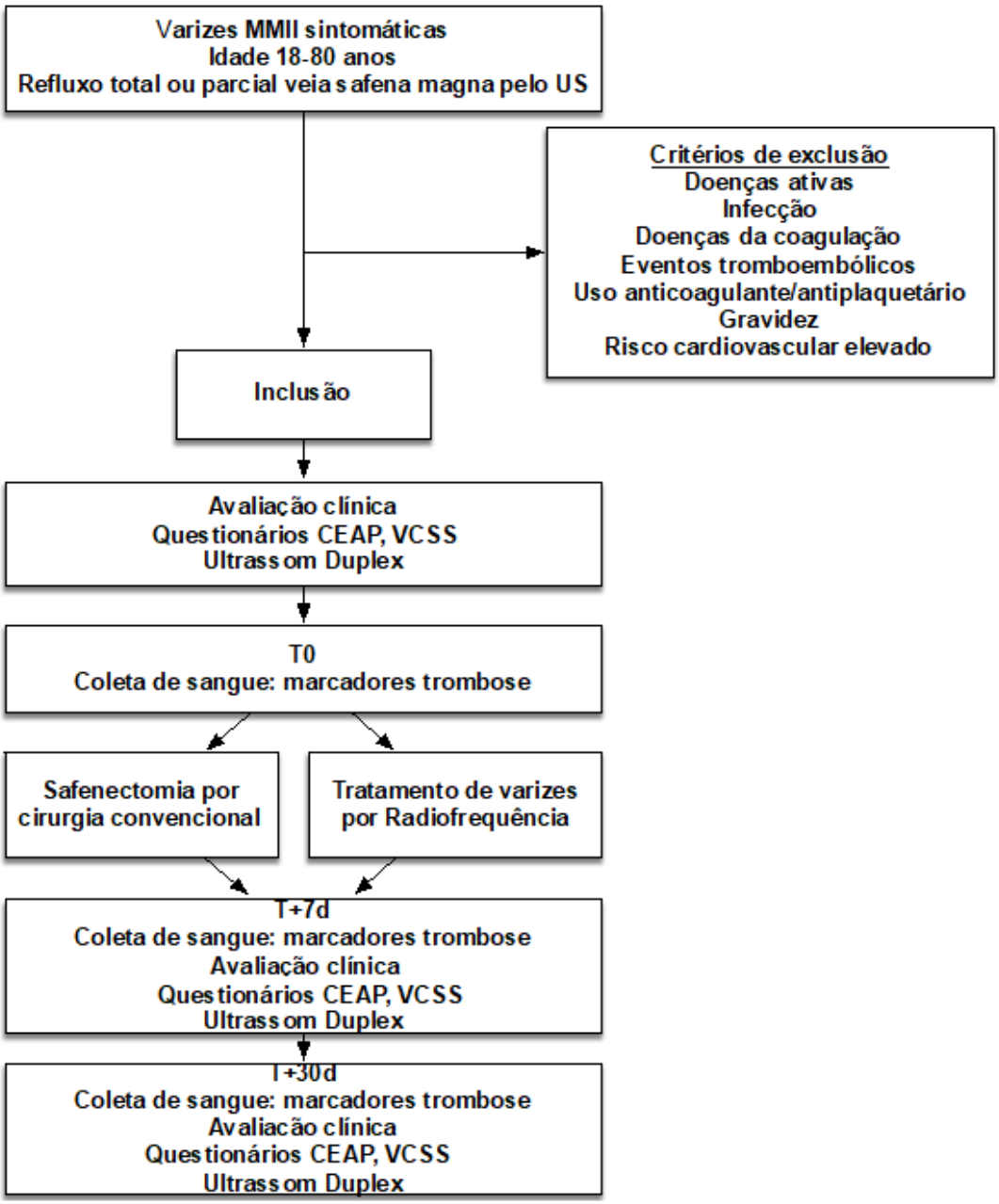
3.2 Critério de inclusão:

Foram incluídos no presente estudo os pacientes com varizes de membros inferiores sintomáticas, com idade maior que 18 anos e menor que 80 anos, com indicação de tratamento cirúrgico, com refluxo total ou parcial da veia safena magna detectado em US duplex pré-operatório atendidos no Ambulatório Médico de Especialidades do Hospital Estadual de Américo Brasiliense do complexo HCRP-FAEPA e que autorizaram a sua inclusão na pesquisa através da assinatura do termo de consentimento livre esclarecido.

3.3 Critérios de exclusão:

Pacientes com doenças infeciosas ou inflamatórias subjacentes em atividade como câncer, lúpus, tuberculose, trombofilias conhecidas, úlceras infectadas ou outras patologias infecciosas. Pacientes com histórico de trombose venosa ou com risco cardiovascular elevado também foram excluídos. O organograma resumido é apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Desenho de estudo e suas etapas.



Fonte: O autor (2021)

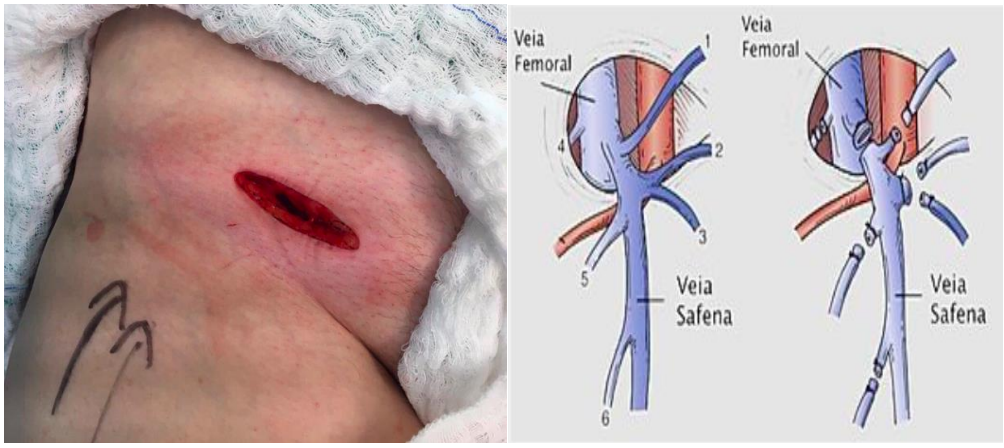
3.4 Técnica Cirúrgica

Todos os procedimentos foram realizados sob raquianestesia e em todos os casos houve flebectomias associadas independentemente da técnica realizada.

3.4.1 Safenectomia magna por cirurgia convencional - *Stripping*

A safenectomia da veia safena magna por cirurgia convencional foi realizada em regime ambulatorial no centro cirúrgico. Utilizamos a técnica cirúrgica padrão. Em resumo, por meio de uma inguinotomia transversa, a junção safeno-femoral é dissecada, a croça é identificada e todas as suas tributárias são seccionadas e ligadas (figuras 10 e 11). A veia safena magna é dissecada na altura do joelho, perna proximal ou pré-maleolar e submetida a ligadura distal (figura 12).

Figuras 10 – Inguinotomia e ramos da croça durante a abordagem da cirurgia convencional.



Fonte: Matkovski *et al.* (2017); Puggina (2019)

Figura 11 – Extrusão do fleboextratator na incisão inguinal

Fonte: O autor (2021).

Figura 12 – Extrusão do fleboextratator na incisão distal em perna proximal

Fonte: O autor (2021).

Os trajetos venosos colaterais são removidos pela técnica de flebectomia convencional. Com auxílio de um fleboextrator a veia safena magna é ressecada entre as incisões. Compressão local é aplicada sobre a face medial da coxa e perna. Finaliza-se com o enfaixamento do membro, que será trocado por meias longas tipo 7/8 de compressão graduada 20-30 mmHg após 24 horas, e usadas por 30 dias.

Para se tentar minimizar diferenças em relação à técnica cirúrgica, todos os cirurgiões envolvidos foram submetidos a um treinamento e normalização de condutas intraoperatórias.

3.4.2 Termoablação por Radiofrequência (*RFA*)

O acesso à veia doente é feito através da punção guiada por ecografia em topografia de joelho, perna proximal ou pré-maleolar e posicionado um introdutor. Uma vez que o acesso venoso esteja estabelecido, a posição do doente é mudada para a posição de Trendelenburg. O cateter é então avançado à 2 cm da junção com a veia femoral comum (junção safeno-femoral) sempre sob orientação ecográfica. A posição final do cateter deve ser imediatamente inferior à veia epigástrica superficial, que é tributária da junção safeno-femoral.

Em seguida ao posicionamento do cateter é realizado a tumescência do compartimento safeno com solução salina injetada no subcutâneo ao longo do comprimento da veia (10ml/cm). O objetivo da tumescência é a proteção da pele e estruturas vizinhas contra o calor e compressão da veia para otimizar a superfície de contato entre o endotélio e a extremidade do cateter.

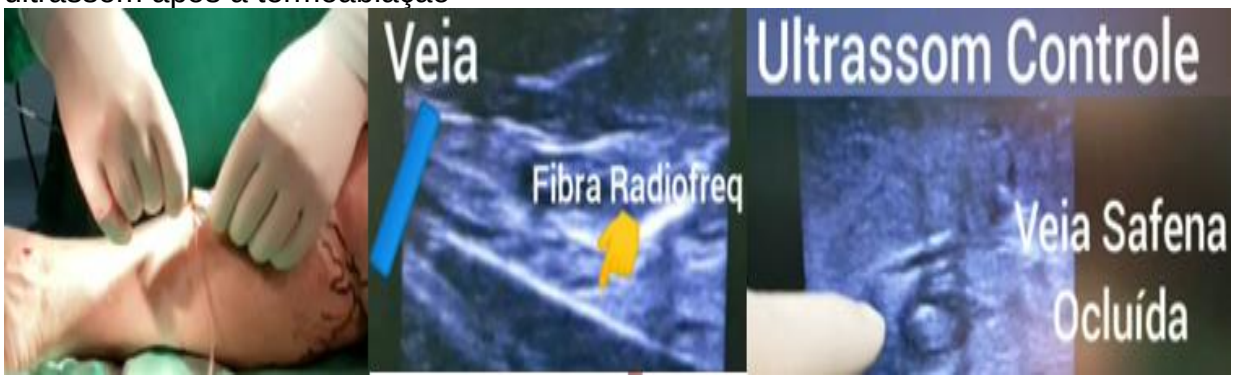
A ablação por RFA é realizada de forma segmentar, tratando um segmento venoso de 7cm em um ciclo de 20 segundos. A parede venosa é exposta à corrente

alternada de alta-frequência por contato direto das pontas do cateter com o endotélio. A temperatura de tratamento é 120 ºC, permitindo uma temperatura tecidual de 110ºC. No segmento mais próximo à junção safeno- femoral é indicado 2 ciclos de tratamento de 20 segundos, assim como nos segmentos muito dilatados ou adjacentes a veias perfurantes. Nos demais segmentos apenas 1 ciclo de 20s é suficiente.

Depois que o cateter é removido, o doente retorna à posição horizontal e é, então, feito um controle ecográfico para avaliar a permeabilidade da veia femoral e da veia epigástrica superficial. No final, realiza-se o enfaixamento e o uso das meias elásticas da mesma forma que para cirurgia convencional.

Para se tentar minimizar diferenças em relação à técnica cirúrgica, todos os cirurgiões envolvidos foram submetidos a um treinamento e normalização de condutas intraoperatórias.

Figura 13 – Punção para acesso a veia safena com introdutor de 7Fr. Passagem e posicionamento da fibra de Radiofrequência guiada por ultrassom e imagem de ultrassom após a termoablação



Fonte: O autor (2021).

3.5 Coleta do Material:

Os voluntários da pesquisa foram submetidos a uma ficha de entrevista clínica e termo de consentimento livre esclarecido (Apêndice D) previamente à inclusão no estudo. Após o preenchimento dos critérios de inclusão e exclusão, foram incluídos no trabalho. A coleta de sangue foi feita através de veia periférica (10mL) no que foram distribuídos em alíquotas determinadas para cada dosagem específica. Os tempos de coleta foram no pré-operatório, em 7 dias e em 30 dias do procedimento.

3.6 Armazenamento do Material:

As amostras de sangue já coletadas nos diversos tempos do estudo foram acondicionadas no Hospital Estadual de Américo Brasiliense em 5 tubos azuis, 1 tubo amarelo e 1 tubo roxo-EDTA. Posteriormente, centrifugadas e o soro e plasma armazenados a –80º Celsius.

3.7 Análise laboratorial:

Nos dias das dosagens, os materiais – soros e plasmas - foram descongelados e preparados conforme orientação dos kits de dosagens para posterior leitura no espectrofotômetro em diferentes comprimentos de onda. Os resultados são fornecidos em números (duplicatas), cada quais jogados numa equação logística de quatro parâmetros, calculados valores médios e assim chegamos aos valores numéricos finais para a análise estatística.

3.7.1. Técnicas de dosagem:

Foram realizados a análise do leucograma e contagem de plaquetas, dosagem atividade do complexo Trombina – Antitrombina, dosagem da P-selectina, Fator de von Willebrand, ICAM e VCAM. Leucograma e contagem de plaquetas foram realizadas nas técnicas padrão de apresentação de hemograma. Em relação aos marcadores, as especificações técnicas das dosagens são apresentadas na sequência:

3.7.2. Dosagem Complexo Trombina-Antitrombina

Teste imunoenzimático (ELISA) (Abcam®, catálogo n. ab108907) em que os complexos Trombina-Antitrombina formados após a neutralização da Trombina pela Antitrombina III têm sido utilizados como marcador substituto para a geração de trombina.

3.7.3. Dosagem P-Selectina Solúvel

Teste imunoenzimático (ELISA) (Abcam®, catálogo n. CD62P) em que o imunoabsorvente enzimático in vitro gera medição quantitativa de CD62P humano em sobrenadantes de soro, plasma e cultura de células. Este ensaio emprega um anticorpo específico para CD62P humano. A solução de parada muda da cor de azul para a amarela e a intensidade da cor é medida.

3.7.4. Dosagem do Antígeno do Fator de von Willebrand

Teste imunoenzimático (ELISA) (DuoSet®, catálogo n. DY2764-05) para quantificação do domínio A2 do fator humano de von Willebrand natural e recombinante no plasma.

3.7.5. Dosagem Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1)

Teste imunoenzimático (ELISA) (DuoSet®, catálogo n. DY720 – 15 plates) para medição da molécula humana intracelular solúvel de adesão molecular 1 – ICAM – 1.

3.7.6. Dosagem Molécula de Adesão de Célula Vascular-1 (VCAM-1)

Teste imunoenzimático (ELISA) (DuoSet®, catálogo n. DY809 – 15 plates) para medição da molécula vascular humana natural e recombinante de adesão celular 1 – VCAM – 1.

3.7.7. Dosagem P-Selectina Solúvel

Teste imunoenzimático (ELISA) (DuoSet®, catálogo n. DY137 – 15 plates) para quantificação da molécula humana P-Selectina natural e recombinante.

Uma síntese dos tipos de avaliações que serão realizadas e seus respectivos métodos de dosagem está representado na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1 – Síntese das avaliações, biomarcadores e métodos de dosagem

Avaliação	Biomarcador	Método de dosagem
Geração de trombina	Complexo trombina-antitrombina (TAT)	Ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA).
Disfunção endotelial	Antígeno do Fator de von Willebrand	ELISA
Moléculas de adesão celular	ICAM VCAM	ELISA ELISA
Ativação plaquetária	P-selectina solúvel	ELISA

Fonte: O autor (2021)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística foi utilizado o software *GraphPad Prism version 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA)*.

O teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher foram usados para variáveis demográficas categóricas, representadas por número absoluto e porcentagem. O teste T de *Student* (distribuição normal) ou o teste de Mann Whitney (distribuição não-normal) para as variáveis demográficas contínuas, sendo expressas em média e desvio padrão.

Para a análise dos marcadores séricos foi realizada análise intergrupo (comparação entre as duas técnicas em cada tempo) e a análise intragrupo (análise da mesma técnica ao longo do tempo). Para tanto, foi utilizado o teste ANOVA de medidas repetidas ou Mixed-effects analysis com pós-teste de comparações múltiplas de Sidak. As variáveis nos gráficos foram expressas como média e erro padrão. Para descartar a hipótese de nulidade, considerou-se que a ocorrência casual das diferenças observadas não poderia exceder 5% ($p<0,05$).

O pequeno número de pacientes que apresentaram EHIT não permitiu análise de subgrupo com força estatística adequada.

RESULTADOS

5- RESULTADOS

5.1 Resultados demográficos e epidemiológicos

Trinta e cinco indivíduos (24 RFA e 11 SFN, total de 39 membros inferiores tratados) foram incluídos no estudo. Quatro pacientes foram submetidos à intervenção em ambas as safenas magnas no mesmo procedimento, uma paciente do grupo RFA (4,1%) e três do grupo SFN (27%). A taxa de oclusão da VSM em 30 dias foi de 100%.

Três pacientes RFA (12,5%) apresentaram *endovenous heat-induced thrombus (EHIT)*, incluindo o único paciente de intervenção bilateral no grupo RFA. Não houve nenhum caso de trombose venosa no grupo SFN. Todos os três pacientes com EHIT foram classificados como Classe 2 e não apresentaram sintomatologia clínica e nem embolia pulmonar. O diagnóstico foi realizado durante ultrassom de controle no sétimo dia. O tratamento instituído foi a anticoagulação com rivaroxabana durante 30 dias, com controle ultrassonográfico mostrando regressão do trombo em todos os casos.

Dos 35 pacientes selecionados, 27 (77,14%) são do sexo feminino e 8 (22,86%) do sexo masculino, o que se assemelha a epidemiologia relatada na literatura brasileira (Maffei *et al.*, 2008). A idade média dos participantes foi de 50 ± 12 anos e o Índice de Massa Corpórea (IMC) médio foi de 28, ± 6 Kg/m², ambos sem diferença estatística entre os grupos. A comorbidade mais frequente foi a Hipertensão Arterial Sistêmica, totalizando 11 (31,4%) pacientes, com distribuição homogênea entre os grupos. Também não houve diferença significativas entre os grupos em relação a cirurgia de varizes prévia ou trombose superficial prévia.

Dos três indivíduos que apresentaram EHIT, a análise dos dados epidemiológicos não demonstrou diferença estatística em relação ao sexo, idade, IMC, comorbidades, tabagismo e escore de gravidade em relação aos demais indivíduos.

Tabela 2 – Características clínicas de 35 pacientes tratados por técnica cirúrgica convencional (*stripping*) ou ablação térmica por radiofrequência (RFA).

Variáveis (n = número de pacientes) Número (%) ou média ± desvio padrão	**Safenectomia (SFN)**	**Termoablação por Radiofrequência (RFA)**	**P valor**	**RFA_sem EHIT**	**RFA_EHT**	**P valor**
	(N= 11)	**(N = 24)**		**(N=21)**	**(N=3)**	
Idade – anos	51 ± 11	50 ± 13	.75	50 ± 12	48 ± 19	.78
Sexo Feminino	8 (73)	19 (79)	.99	16 (76)	3 (100)	.68
Índice Massa Corporal	29±4.6	27.±7.2	.63	28 ± 7.6	25 ± 1.2	.46
Hipertensão Arterial	3 (27)	6 (25)	.99	6 (29)	0	.54
Diabetes mellitus	0	2 (8)	.99	2 (9.5)	0	.99
Hipercolesterolemia	1 (9)	2 (8)	.99	2 (9.5)	0	.99
Tabagismo	1 (9)	3 (12.5)	.99	3 (14)	0	.99
VCSS	6.7 ± 3.2	6.2 ± 3.3	.66	6.1 ± 2.8	6.7 ± 6.5	.90
Classificação CEAP						
CEAP 1	0	1 (4.1)		1 (4.7)	0	
CEAP 2	3 (2.7)	7 (29)		7 (3.4)	0	
CEAP 3	5 (45)	12 (50)	.59	10 (4.7)	2 (67)	0.08
CEAP 4	3 (2.7)	2 (8.3)		2 (9.5)	0	
CEAP 5	0	1 (4.1)		0	1 (34)	

Fonte: O Autor (2021)

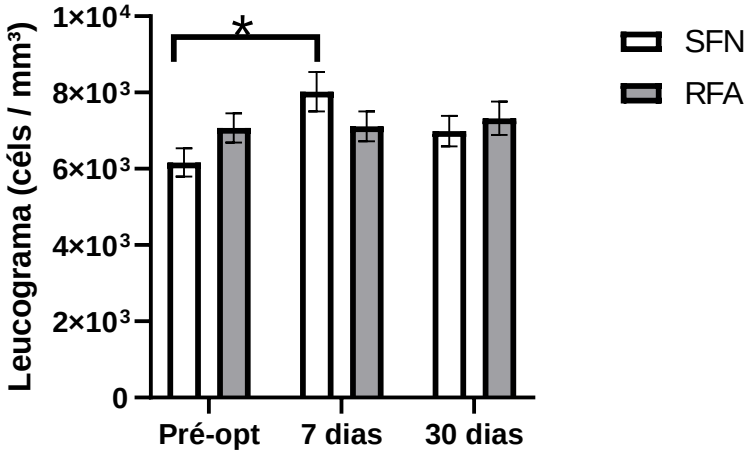
5.2. Análise Laboratorial

Leucograma e contagem de plaquetas foram dosadas para avaliação da ativação inflamatória sistêmica. Para a avaliação da ativação de trombina utilizamos a dosagem do complexo trombina-antitrombina (TAT). Para avaliação de lesão endotelial utilizamos a dosagem do antígeno do Fator de von Willebrand solúvel (sVWf) e para avaliarmos a ativação e adesão plaquetária e de células inflamatórias dosamos as formas solúveis de P-selectina, ICAM-1 e VCAM-1.

5.2.1 Dosagem dos Leucócitos e Plaquetas

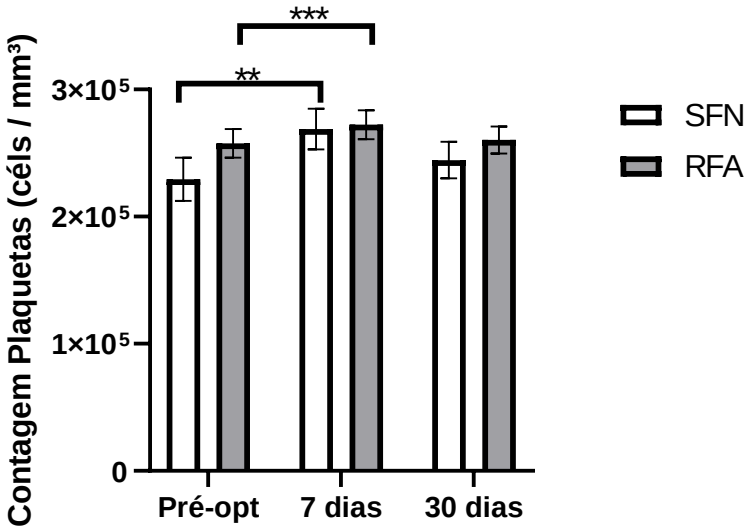
Na avaliação da atividade inflamatória sistêmica observamos um aumento do leucograma maior no grupo da SFN em relação ao grupo RFA no tempo de 7 dias em relação aos níveis pré-operatórios (avaliação intragrupo - gráfico 1), enquanto no caso da contagem de plaquetas ambos os grupos apresentam elevações significativas no tempo de 7 dias (gráfico 2). Em nenhum dos tempos há diferenças significativas entre os grupos (avaliação intergrupo).

Gráfico 1. Comparação do leucograma entre os grupos nos diversos tempos.



Fonte: O Autor (2021)

Gráfico 2. Comparação da contagem de plaquetas entre os grupos nos diversos tempos.

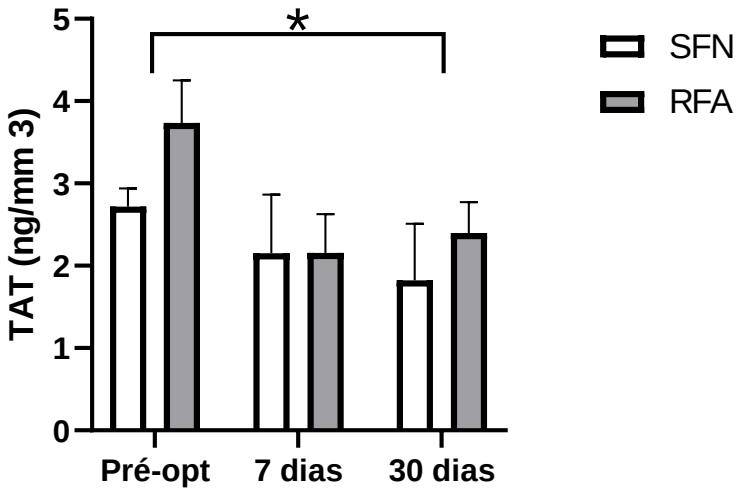


Fonte: O Autor (2021)

5.2.2 Dosagem do Complexo Trombina – Antitrombina

Em relação à avaliação da trombina observamos uma diminuição aparente dos níveis de TAT nos tempos de 7 e 30 dias em relação ao pré-operatório (gráfico 3), porém sem diferenças entre os grupos em cada um desses tempo.

Gráfico 3. Comparação da dosagem do complexo trombina entre os grupos nos diversos tempos

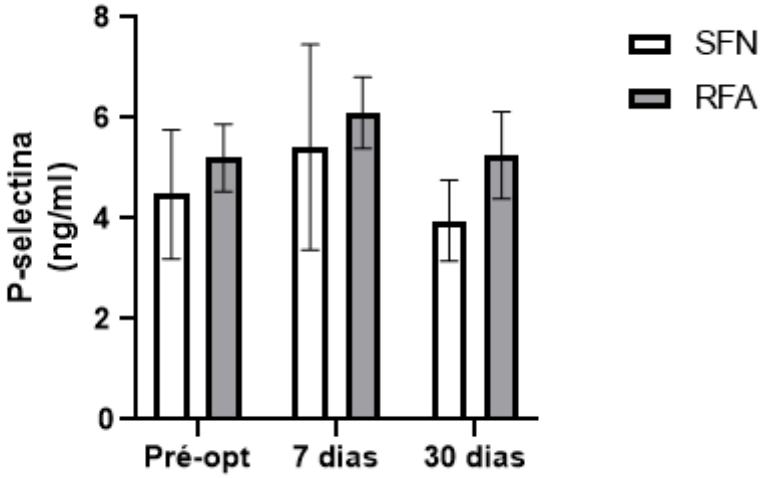


Fonte: O Autor (2021)

5.2.3 Dosagem de P-selectina solúvel

Na avaliação da adesão e ativação plaquetária por meio das dosagens de P-selectina não encontramos diferenças estatisticamente significativa em todos os tempos da dosagem, vide gráfico 4.

Gráfico 4. Comparação dos níveis de P-selectina entre os grupos nos diversos tempos

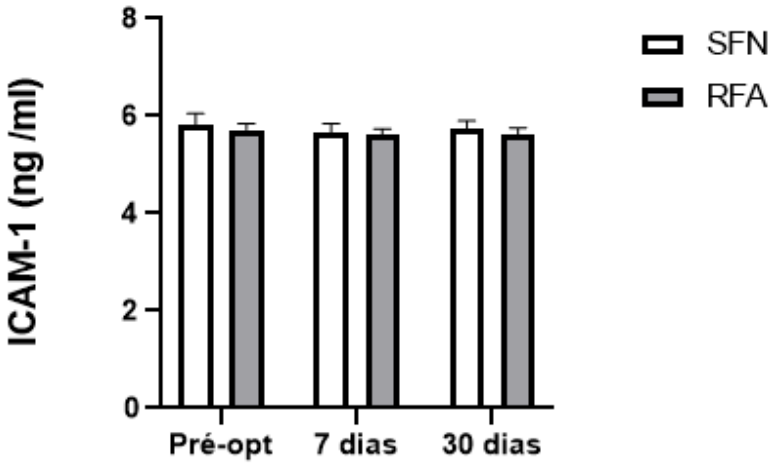


Fonte: O Autor (2021)

5.2.4 Dosagem do ICAM-1

Em relação a avaliação das células inflamatórias por meio da ICAM-1 não observamos nenhuma diferença significativa, seja na avaliação intragrupo seja na avaliação intergrupos (gráfico 5).

Gráfico 5. Comparação dos níveis do ICAM-1 entre os grupos nos diversos tempos.

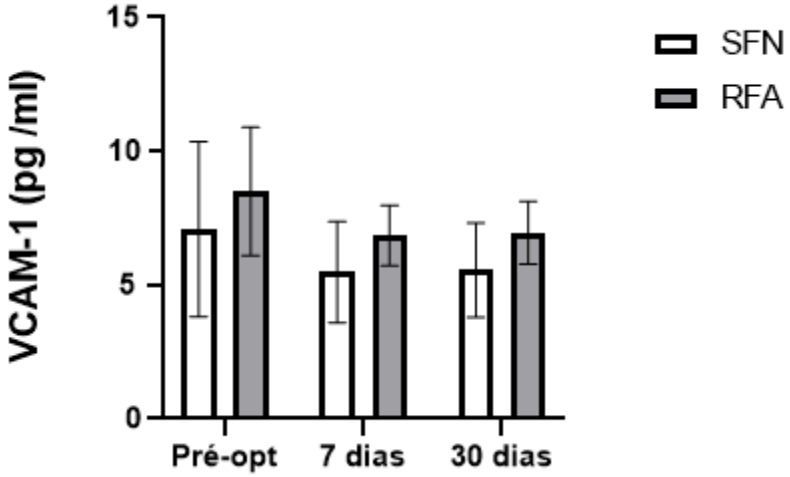


Fonte: O Autor (2021)

5.2.5 Dosagem do VCAM-1

Na avaliação das células inflamatórias por meio da VCAM-1, a análise de variância dos valores 1 não apresentou diferença entre os grupos conforme apresentado no gráfico 6 a seguir.

Gráfico 6. Comparação dos níveis do VCAM-1 entre os grupos nos diversos tempos.

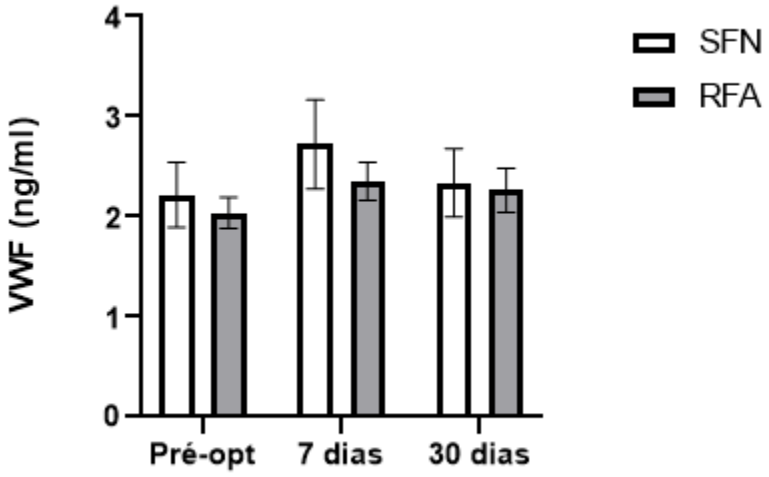


Fonte: O Autor (2021)

5.2.6 Dosagem do Fator de von Willebrand

Em relação à avaliação da lesão endotelial por meio da dosagem do sVWF, a análise de variância dos valores do Fator de von Willebrand não apresentou diferença entre os grupos conforme apresentado no gráfico 7 a seguir.

Gráfico 7. Comparação dos níveis do Fator de von Willebrand entre os grupos nos diversos tempos.



Fonte: O Autor (2021)

DISCUSSÃO

6- DISCUSSÃO

Atualmente, as técnicas termoablativas são de primeira escolha para tratamento da insuficiência da veia safena magna (WITTENS *et al*., 2015). As vantagens dessas técnicas foram demonstradas em estudos randomizados multicêntricos por diversos autores e, dentre essas vantagens, as principais são a menor incidência de dor pós-operatória e o retorno mais precoce às atividades diárias (RASMUSSEN *et al.*, 2011). No entanto, essas técnicas não se mostraram livres de complicações, sendo que o EHIT é a que traz maiores preocupações pelo seu potencial de desfechos graves.

Autores já estudaram fatores de risco clínicos e anatômicos para EHIT e entre eles estão a técnica cirúrgica, o diâmetro da veia, idade e flebectomias concomitantes (SUFIAN *et al.*, 2015). Porém, poucos avaliaram alterações inflamatórias, pró-trombóticas, moleculares plasmáticas ou teciduais desses pacientes (LURIE; KISTNER, 2013; HEERE-RESS *et al.*, 2011) e menos ainda compararam adequadamente essas técnicas com a técnica cirúrgica padrão.

A tromboprofilaxia farmacológica em cirurgia venosa ainda é alvo de controvérsias justamente por não se entender adequadamente todos os fatores envolvidos na formação ou extensão dos trombos no sistema venoso profundo (QURESHI, 2016; UTHOFF *et al.*, 2017). Segundo o Projeto Diretrizes da Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular – SBACV (Projeto Diretrizes SBACV, 2015), a profilaxia medicamentosa está indicada para casos de alto risco tromboembólico, como em doentes com TVP ou TEP prévios, trombofilia, idosos e portadores de câncer. Deve-se fazer uma estratificação individual de cada paciente. No entanto, sabemos que é difícil uma avaliação mais acurada do risco trombótico em alguns casos e são escassos os estudos bem elaborados de tromboprofilaxia em cirurgia vascular venosa.

Atualmente, ainda não existe um consenso sobre profilaxia antitrombótica individualizada para cirurgia de varizes, tanto para os procedimentos convencionais quanto para os tratamentos termoablativos. Assim, o tipo e a duração da tromboprofilaxia destes pacientes é altamente variável e fica à mercê da experiência pessoal de cada profissional, conforme mostram pesquisas recentes inclusive da

própria SBACV (SBACV, 2015). Portanto, há a necessidade de um modelo de estratificação de risco que se concentre em fatores individualizados para os pacientes com varizes (NYAMEKYE, 2018) e os marcadores de trombose venosa podem, eventualmente, auxiliar na escolha da profilaxia se confiáveis e disponíveis na prática clínica. Portanto, este estudo procura responder algumas questões em aberto quanto o verdadeiro potencial pró-inflamatório e pró-trombótico da técnica de termoablação endovenosa por RFA.

Demonstramos uma elevação maior do leucograma na primeira semana de pós-operatório da SFN comparada à RFA. Esse achado pode ser interpretado como uma menor ativação inflamatória na RFA, haja vista ser considerado um procedimento minimamente invasivo. Esse achado é corroborado pelos sinais e sintomas mais brandos no pós-operatório, o que pode explicar a menor sensação álgica e recuperação mais rápida dos pacientes submetidos a este procedimento.

A contagem de plaquetas também é considerada uma forma de se avaliar ativação inflamatória além da própria ativação pró-trombótica (SIMANEK *et al.*, 2010; BAIDILDINOVA *et al.*, 2021). Observamos que há um aumento da concentração de plaquetas no sangue tanto no grupo SFN quanto no grupo RFA no sétimo dia de pós-operatório, que pode ser marcador tanto de uma resposta inflamatória persistente após uma semana do procedimento quanto uma resposta do organismo à ativação da coagulação primária em resposta ao trauma cirúrgico, conhecida como trombocitose reativa (SCHMUZIGER *et al.*, 1995). Neste caso, não houve diferença entre os grupos, mostrando comportamentos semelhantes entre as duas técnicas.

A produção de trombina é uma ferramenta utilizada em muitos estudos para avaliar a ativação global da cascata de coagulação, haja vista ser o produto final e efetor final desta via (LEE *et al.*, 2017). A dosagem da concentração do complexo trombina-antitrombina, que pode ser considerada a fração neutralizada da trombina, tem relação direta e proporcional com o nível de atividade pró-trombótica. No nosso estudo, curiosamente, evidenciamos uma diminuição do TAT tanto no pós-operatório dos casos de SFN quanto no de RFA em 30 dias. Alguns estudos relacionam a presença de varizes com estados inflamatórios ou pró-trombóticos elevados e, quando é feito o tratamento cirúrgico, ocorre uma diminuição desses fatores (ARASE, *et al.*, 2019). Esta poderia ser, uma explicação deste comportamento inesperado do TAT. De qualquer forma, também, neste caso, não houve diferença entre os grupos.

O Fator de von Willebrand aumentado pode estar associado a estados de hipercoagulabilidade como demonstrados em estudos prévios (KOSTER *et al.*, 1995; JEZOVNIK; POREDOS, 2010), assim como a P-selectina, que se mostra um biomarcador promissor em diversas áreas que estudam eventos tromboembólicos (AY et *al.*, 2007; GREMMEL *et al.*, 2011). Não houve ativação significativa desses fatores tanto ao longo do tempo quanto na comparação entre os grupos, que pode ser compatível com a baixa ativação pró-trombótica desses procedimentos e o baixo índice de eventos trombóticos significativos observados.

ICAM-1 e VCAM-1, considerados peças-chave quando se trata de adesão e rolamento endotelial de células inflamatórias em processos fisiológicos e patológicos, também já se mostraram úteis na avaliação de risco tromboembólico (MOSEVOLL *et al.*, 2015; BUI; WIESOLEK; SUMAGIN, 2020). Porém, no nosso estudo, não mostraram alterações ao longo do tempo ou do tipo de tratamento.

Como limitações do estudo temos o número amostral relativamente pequeno, que não permitiu uma análise de subgrupo - principalmente pelo número pequeno de eventos de EHIT que ocorreram (3 indivíduos). Além disso, quatro (11.4%) pacientes tiveram a VSM tratada bilateralmente. Em teoria, os pacientes submetidos ao tratamento bilateral apresentam respostas inflamatórias maiores justamente pelo porte maior da cirurgia. No entanto, flebectomias foram realizadas bilateralmente em todos os casos. Finalmente, podemos apontar também como uma limitação o pequeno número de coletas amostrais no pós-operatório, sendo que dosagens mais repetidas (exemplo: em oito, 24 e 48 horas de pós-operatório) poderiam refletir mais adequadamente a curva de concentração dos marcadores neste período.

Novas perspectivas de estudo nesse campo devem ser estudadas, tanto para as técnicas termoablativas ou escleroterapia por espuma como para os novos procedimentos como a obliteração da VSM pelo cianoacrinolato ou as técnicas mecânicas. É importante conhecermos melhor a resposta inflamatória e trombótica desses novos procedimentos para assim desenvolvermos estratégias de minimização das complicações.

O estudo de biomarcadores de risco de tromboembolismo venoso é um campo em rápida evolução com utilidade nas mais diversas áreas da medicina, sendo que estes também devem ser explorados no campo da cirurgia vascular e mais especificamente da cirurgia venosa. A procura de marcadores úteis e viáveis dentro do contexto de intervenções em território venoso deve ser foco de estudos bem

elaborados, prospectivos e com número amostral adequado baseando-se em evidências na literatura médica.

CONCLUSÃO

7- CONCLUSÃO

Demonstramos que a termoablação por radiofrequência apresenta resposta inflamatória sistêmica semelhante à safenectomia, com evidências que seja, até mesmo, ligeiramente menor - o que é compatível com o que é observado na prática clínica em relação aos sinais flogísticos mais brandos pós RFA. Além disso, no pós-operatório da RFA, não há uma diferença na ativação na geração de trombina, lesão endotelial ou ativação de moléculas de adesão em relação à SFN, a despeito do mecanismo de lesão endotelial direta no caso da RFA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEGRA, C.; ANTIGNANI, P. L.; CARLIZZA, A: Recurrent varicose veins following surgical treatment: our experience with five years follow-up. **Eur J Vasc Endovasc Surg**., Bethesda, v. 33, n. 6, p. 751-756, 2007. Doi: 10.1016/j.ejvs.2006.12.020.

ARASE, H. *et al.* Appropriate Surgical Treatment of Symptomatic Primary Varicose Veins Decreases Systemic Inflammatory Biomarkers. **Ann. Vasc. Dis.**, Tokushima, Japan, v. 12, n. 3, p. 367-371, 2019. Doi: 10.3400/avd.oa.19-00011

AY, C. *et al*. High concentrations of soluble P-selectin are associated with risk of venous thromboembolism and the P-selectin Thr715 variant. **Clin Chem**, Vienna, Austria, v. 53, n. 7, p. 1235-1243, 2007. Doi: 10.1373/clinchem.2006.085068

BAIDILDINOVA, G. *et al*. Soluble Platelet Release Factors as Biomarkers for Cardiovascular Disease. **Front. Cardiovasc. Med.**, Holanda, v. 8, n. 8, p. 684920, 2021. Doi: 10.3389/fcvm.2021.684920

BLANN, A. D.; NOTEBOOM, W. M.; ROSENDAAL, F. R. Increased soluble P-selectin levels following deep venous thrombosis: cause or effect? **Br J Haematol**., Inglaterra, v. 108, n. 1, p. 191-3, 2000. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01813. x.

BUI, T. M.; WIESOLEK, H. L.; SUMAGIN, R. ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. **J Leukoc Biol.**, Chicago/USA, v. 108, n. 3, p. 787–799, Sep 2020. doi: 10.1002/JLB.2MR0220-549R

CARVALHO, M. V. H.; MARCHI, E. Mecanismo de ação dos agentes hemostáticos locais e adesivos tissulares. **Rev Med Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 23, n. 4, p. 504-509, 2013. DOI: http://www.dx.doi.org/10.5935/2238-3182.20130077

COSMI, B. *et al*. D-dimer and factor VIII are independent risk factors for recurrence after anticoagulation withdrawal for a first idiopathic deep vein thrombosis. **Thromb Res**., Bologna/Italia, v. 122, n. 5, p. 610-617, 2008. doi: 10.1016/j.thromres.2007.12.024.

DEGUCHI, K. *et al*. Dynamic fluctuations in blood of thrombin/antithrombin III complex (TAT). **Am J Hematol.**, USA, v. 38, n. 2, p. 86-9, 1991. https://doi.org/10.1002/ajh.2830380203

DIELIS, A. J. H., *et al*. Thrombin generation in patients after acute deep-vein thrombosis. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 100, n. 08, p. 240–245, 2008. DOI: 10.1160/TH08-02-0099

FMIJNHEER, R., *et al*. The origin of P-selectin as a circulating plasma protein. **Thromb Haemost.**, v. 77, n. 6, p. 1081-1085, 1997.

FRASIER, K.; LATESSA, V. Minimally invasive vein therapy and treatment options for endovenous heat-induced thrombus. **J Vasc Nurs.**, New York, v. 26, n. 2, p. 53-7, 2008. https://doi.org/10.1016/j.jvn.2008.03.002

GLOVICZKI, P. *et al.* The care of patients with varicose veins and associated chronic venous diseases: clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum. **J Vasc Surg.**, New York, v. 53, n. 5 Suppl, p. 2S-48S, May 2011. doi: 10.1016/j.jvs.2011.01.079

GÖCKERITZ, O. Current standards and recent progress in minimally invasive Phlebo surgery. **J Cutan Aesthet Surg.**, Leipzig-Germany, v. 5, p. 104-14, 2012. DOI: 10.4103/0974-2077.99443

GREMMEL, T., *et al*. Soluble p-selectin, D-dimer, and high-sensitivity C-reactive protein after acute deep vein thrombosis of the lower limb. **J Vasc Surg.**, New York, v. 54, n. 6 Suppl, p. 48S-55S, 2011. doi: 10.1016/j.jvs.2011.05.097.

HEALY, D. A., *et al*. A Systematic Review and Meta-analysis of Thrombotic Events Following Endovenous Thermal Ablation of the Great Saphenous Vein. **Eur J Vasc Endovasc Surg**., Irlanda, v. 56, n. 3, p. 410-24, 2018. doi: 10.1016/j.ejvs.2018.05.008

HEERE-RESS, E. *et al*. Does endovenous laser ablation induce endothelial damage at the saphenofemoral junction? **Dermatol. Surg.**, Inglaterra, v. 37, n. 10, p. 1456–1463, 2011. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02106. x.

HINGORANI, A. P., *et al*. Deep venous thrombosis after radiofrequency ablation of greater saphenous vein: a word of caution. **J Vasc Surg.**, New York, v. 40, n. 3, p. 500-4, Sep. 2004. doi: 10.1016/j.jvs.2004.04.032.

JANG, S.; L'HORTET, A. C.; SOTO-GUTIERREZY, A. Induced Pluripotent Stem Celle Derived Endothelial Cells**. Am J Pathol.**, Pittsburgh, v.189, n. 3, p. 502-512, 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2018.12.004

JEZOVNIK, M. K.; POREDOS, P. Idiopathic venous thrombosis is related to systemic inflammatory response and to increased levels of circulating markers of endothelial dysfunction. **Int. Angiol.**, Eslovenia, v. 29, n. 3, p. 226-31, 2010. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20502419/ >

KABNICK, L. S. *et al*. Classification and treatment of endothermal heat-induced thrombosis: Recommendations from the American Venous Forum and the Society for Vascular Surgery This Practice Guidelines. **Phlebology**, USA, v. 36, p. 8-25, 2021. DOI: 10.1177/0268355520953759.

KABNICK, L. S. *et al*. Endovenous heat induced thrombus (EHIT) at the superficial-deep venous junction: a new post-treatment clinical entity, classification and potential treatment strategies. 1In: **8th Annual Meeting of the American Venous Forum**, Miami, FL; February 2006.

KHORANA, A. A., *et al*. Development and validation of a predictive model for chemotherapy-associated thrombosis. **Blood**, Washington, v. 111, n. 10, p. 4902-4907, 2008. https://doi.org/10.1182/blood-2007-10-116327

KONG, D.-H. *et al*. Emerging Roles of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) in Immunological Disorders and Cancer. **Int. J. Mol. Sci.**, Bethesda, v. 19, n. 1057, p. 1-16, 2018. https://doi.org/10.3390/ijms19041057

KOSTAS, T. T. *et al.* The appropriate length of great saphenous vein stripping should be based on the extent of reflux and not on the intent to avoid saphenous nerve injury. **J Vasc Surg.**, New York, v. 46, p. 1234-1241, 2007. doi: 10.1016/j.jvs.2007.07.055.

KOSTER, T. *et al*. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on occurrence of deep-vein thrombosis. **Lancet**, Inglaterra, v. 345, n. 8943, p. 152-155, 1995. doi: 10.1016/s0140-6736(95)90166-3.

KYRLE, P. A. *et al*. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous thromboembolism. **N Engl J Med**., USA, v. 343, n. 7, p. 457-462, 2000. doi: 10.1056/NEJM200008173430702.

LAWRENCE, P. F. et al. Classification of proximal endovenous closure levels and treatment algorithm. **J Vasc Surg**., New York, v. 52, n. 2, p. 388-393, 2010. doi: 10.1016/j.jvs.2010.02.263

LEE, S. Y. *et al*. Thrombin–antithrombin III complex tests: A useful screening tool for postoperative venous thromboembolism in lower limb and pelvic fractures. **J Orthop Surg**, Hong Kong, v. 25, n. 1, p. 1-6, Jan 2017. doi: 10.1177/0170840616684501.

LURIE, F.; KISTNER, R. L. Pretreatment elevated D-dimer levels without systemic inflammatory response are associated with thrombotic complications of thermal ablation of the great saphenous vein. **J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord.**, Minnesota, v. 1, p. 154-158, 2013. doi: 10.1016/j.jvsv.2012.09.002.

MAFFEI, F. H. A.; SILVEIRA, P. A. M. Varizes dos membros inferiores: epidemiologia, patologia, etiopatogenia e fisiopatologia. In: Maffei, F. H. A. *et al*. (Eds). **Doenças Vasculares Periféricas**. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; p.1713-28, 2008.

MANNUCCI, P. M. Treatment of von Willebrand's Disease. **N. Engl J Med.**, USA, v. 351, p.683-694, 2004. DOI: 10.1056/NEJMra040403

MATKOVSKI, P. D. *et al*. Tratamento da recidiva da crossa da veia safena magna por acesso proximal. **Jornal Vascular Brasileiro**, Porto Alegre/RS, v. 16, n. 4, p. 335–338, 2017. https://doi.org/10.1590/1677-5449.004217

MEDTRONIC. **Sistema de RFA Closurefast™.** Disponível em <https://europe.medtronic.com/xd-en/healthcare-professionals/products/cardiovascular/superficial-vein/closurefast-rfa-system.html>. Acesso em [10 jun 2021].

MOSEVOLL, K. A. *et al*. Altered plasma levels of cytokines, soluble adhesion molecules and matrix metalloproteases in venous thrombosis. **Thromb. Res.**, Canadá, v.136, p. 30-39, 2015. doi: 10.1016/j.thromres.2015.04.002.

MOZES, G, *et al*. Extension of saphenous thrombus into the femoral vein: a potential complication of new endovenous ablation techniques. **J Vasc Surg.**, New York, v. 41, n. 1, p. 130-135, 2005. doi: 10.1016/j.jvs.2004.10.045.

NASH, G.; TURNER, L.; SCULLY, M.; KAKKAR, A. Platelets and cancer. **The Lancet Oncology**, New York, v. 3, n. 7, p. 425-430, 2002. doi: 10.1016/s1470-2045(02)00789-1.

NAVARRO, S. Endolaser—a three year follow-up report: Implication on crossectomy and ligation and stripping. In: 1**6th Annual Congress American College of Phlebology**, Fort Lauderdale, FL, nov 2002.

NYAMEKYE, I. K. Effective anti-DVT prophylaxis in patients undergoing endovenous treatment of varicose veins. **Phlebology**, USA, v. 33, n. 1, p. 68-69, Feb 2018. doi: 10.1177/0268355516686450.

PABINGER, I.; AY, C. Biomarkers and venous thromboembolism. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**., Dallas/TX, v. 29, n. 3, p. 332-336, 2009. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.182188.

PABINGER, I.; THALER, J.; AY, C. Biomarkers for prediction of venous thromboembolism in cancer. **Blood**, Washington, v. 122, n. 12, p. 2011-8, Aug 2013. doi: 10.1182/blood-2013-04-460147.

PANNUCCI, C. J. *et al.* Individualized venous thromboembolism risk stratification using the 2005 Caprini score to identify the benefits and harms of chemoprophylaxis in surgical patients: a meta-analysis. **Ann Surg.**, USA, v. 265, n. 6, p. 1094-1103, 2017. doi: 10.1097/SLA.0000000000002126.

PUGGINA, J. **Como é feita a cirurgia de varizes nas pernas? Passo a passo**. Instituto Circular Clínica Médica, São Paulo/SP, 2019. Disponível em <https://www.institutocircular.com.br/post/como-e-feita-a-cirurgia-de-varizes-nas-pernas-passo-a-passo>. Acesso em [10 ago 2021].

QURESHI, M. I. Thromboprophylaxis following superficial venous intervention. **Phlebology**, USA, v. 31, p. 77-80, 2016. doi: 10.1177/0268355515594502.

RASMUSSEN, L. H. *et al*. Randomized clinical trial comparing endovenous laser ablation and stripping of the great saphenous vein with clinical and duplex outcome after 5 years. **J. Vasc. Surg**., New York, v. 58, p. 421-426, 2013. DOI: doi: 10.1016/j.jvs.2012.12.048.

RASMUSSEN, L. H. *et al*. Randomized clinical trial comparing endovenous laser ablation, radiofrequency ablation, foam sclerotherapy and surgical stripping for great

saphenous varicose veins. **Br. J. Surg.**, Oxford, v. 98, p. 1079-1087, 2011. doi: 10.1002/bjs.7555.

RAUTIO, T. *et al*. Endovenous obliteration versus conventional stripping operation in the treatment of primary varicose veins: a randomized controlled trial with comparison of the costs. **J Vasc Surg**., New York, v. 35, p. 958-965, 2002. https://doi.org/10.1067/mva.2002.123096

RHEE, S. J.; CANTELMO, N. L.; CONRAD, M. F.; STOUGHTON, J. Factors influencing the incidence of endovenous heat-induced thrombosis (EHIT). **Vasc Endovascular Surg.**, USA, v. 47, n. 3, p. 207-12, Apr 2013. doi: 10.1177/1538574413478494.

RIBEIRO, A. A. F. *et al*. Uso de concentrado de antitrombina III em cirróticos com distúrbios de coagulação. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo/SP, v. 43, n. 3, p. 189-194, 1997. https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000300004

ROSSET, C. **Genética, Patologia Molecular e Formação de Inibidores Anti-FVIII na Hemofilia A**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013. 122 p. Disponível em <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/90472/000910659.pdf;sequence=1>. Acesso em [06 jul 2021]

SBACV - Sociedade Brasileira de Angiologia e de Cirurgia Vascular. **Projeto Diretrizes SBACV**. Insuficiência Venosa Crônica Diagnóstico e Tratamento [Internet]. São Paulo: SBACV; 2015 [citado 2019 Nov 20]. Disponível em: http://www.sbacv.org.br/lib/media/pdf/diretrizes/insuficiencia-venosa-cronica.pdf

SCHMUZIGER, M. *et al*. Reactive thrombocytosis after coronary bypass surgery. An important risk factor. **Eur. J. Cardiothorac. Surg.**, Oxford, v. 9, p. 393-397, 1995. doi: 10.1016/s1010-7940(05)80172-1.

SCHUTZMAN, L. *et al*. P-Selectin Is Critical for De Novo Pulmonary Arterial Thrombosis Following Blunt Thoracic Trauma. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, California/USA, v. 86, n. 4, p. 583-591, 2018. DOI 10.1097/TA.0000000000002166.

SIMANEK, R. *et al*. High platelet count associated with venous thromboembolism in cancer patients: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). **J. Thromb. Haemost.**, Canadá, v. 8, p. 114-120, 2010. High platelet count associated with venous thromboembolism in cancer patients: Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS).

SUFIAN, S.; ARNEZ, A.; LABROPOULOS, N.; LAKHANPAL, S. Endovenous heat-induced thrombosis after ablation with 1470 nm laser: Incidence, progression, and risk factors. **Phlebology**, USA, v. 30, n. 5, p. 325-30, 2015. doi: 10.1177/0268355514526588.

UTHOFF, H. *et al*. Rivaroxaban for thrombosis prophylaxis in endovenous laser ablation with and without phlebectomy. **J. Vasc. Surg. Venous Lymphat. Disord.**, Minnesota, v. 5, p. 515-523, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jvsv.2016.12.002

VNUS Medical Technologies, Inc: VNUS ClosureFAST Radiofrequency brochure. San Jose, CA, VNUS Medical Technologies, Inc, 2006. [VN25-91-A].

WEISS, R. A.; FEIED, C. F.; WEISS, M. A: **Vein Diagnosis and Treatment**: A Comprehensive Approach. New York, McGraw-Hill, 2001

WITTENS, C. *et al*. Editor's Choice - Management of Chronic Venous Disease: Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). **Eur J Vasc Endovasc Surg.**, Irlanda, v. 49, n. 6, p. 678-737, 2015. doi: 10.1016/j.ejvs.2015.02.007.

APÊNDICES

Apêndice A

Revised Venous Clinical Severity Score (rVCSS)
Escore de Gravidade Clínica Venosa Revisado (EGCVr)

Dor	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderada: 2**	**Grave: 3**
Dor ou outro desconforto (ou seja, hipersensibilidade e dolorimento, peso nas pernas, fadiga, queimação) Presume-se origem venosa		Dor ocasional ou outro desconforto (isto é, que não restrinja as atividades diárias regulares)	Dor ou outro desconforto diário (isto é, que interfira mas que não impeça as atividades diárias regulares)	Dor ou desconforto diário (isto é, limita a maioria das atividades diárias regulares)
Varizes	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderada: 2**	**Grave: 3**
Veias varicosas devem ser ≥ 3 mm na posição ortostática.		Poucas: dispersas (ramos de varizes isoladas ou agrupadas). Inclui a coroa flebectática (veias dilatadas no tornozelo)	Limitada à perna ou a coxa	Envolvendo a perna e a coxa
Edema Venoso	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderado: 2**	**Grave: 3**
Presume-se origem venosa		Limitado ao pé e ao tornozelo	Estende-se acima do tornozelo,	Estende-se até o joelho e acima

			porém abaixo do joelho	

Pigmentação da Pele	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderada: 2**	**Grave: 3**
Presume origem venosa Não inclui pigmentação focal sobre as varizes ou pigmentação devido a outras doenças crônicas (isto é, vasculite, púrpura)	Ausente ou focal	Limitada à área perimaleolar	Difusa sobre o terço inferior da perna	Distribuição se extende acima terço inferior da perna
Inflamação	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderada: 2**	**Grave: 3**
Mais do que somente pigmentação recente (isto é, eritema, celulite, dermatite)		Limitada à área peri-maleolar	Difusa sobre o terço inferior da perna	Distribuição se extende acima do terço inferior da perna
Induração	**Ausente: 0**	**Leve: 1**	**Moderada: 2**	**Grave: 3**
Presume origem venosa de alterações secundárias na pele e região subcutânea (isto é, edema crônico com fibrose, hipodermite –		Limitado à região perimaleolar	Difuso sobre o terço inferior da perna	Distribuição se extende acima do terço inferior da perna

inclui atrofia branca e lipoderma-toesclerose)				

Número de Úlceras Ativas	**0**	**1**	**2**	**3**
Duração das Úlceras Ativas (ativa há mais tempo**)**	N/A	< 3 meses	> 3 meses, porém < 1 ano	Não cicatrizada há > 1 ano
Tamanho das Úlceras Ativas (maior ativa)	N/A	< 2 cm de diâmetro	2-6 cm de diâmetro	> 6 cm de diâmetro
Uso de Terapia Compressiva	**0**	**1**	**2**	**3**
	Não utilizado	Uso intermitente de compressão	Uso da compressão na maioria dos dias	Adesão total ao uso da compressão

Apêndice B

Classificação CEAP (básica)

C: Classificação Clínica	0	Ausência de sinais ou sintomas	**E: Classificação Etiológica**	C	Congénita
	1	Telangiectasia ou veias reticulares		S	Secundária
	2	Varizes tronculares		P	Primária
	3	Edema, de etiologia exclusivamente venosa		N	Sem etiologia identificada
	4a	Pigmentação ou eczema	**A: Classificação Anatómica**	S	Superficial
	4b	Lipodermatoesclerose ou atrofia branca		P	Perfurante
	5	Úlcera venosa prévia, actualmente cicatrizada		D	Profunda
				N	Sem localização identificada
	6	Úlcera venosa activa	**P: Classificação Patofisiológica**	R	Refluxo
	S	Sintomático, incluindo dor, sensação de peso ou aperto, irritação cutânea, câibras musculares		O	Obstrução
				R-O	Refluxo e obstrução
	A	Assintomático		N	Sem patofisiologia identificada

Apêndice C

Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Título do projeto: "BIOMARCADORES COMO PREDITORES DE TROMBOSE VENOSA NO TRATAMENTO DE VARIZES POR TERMOABLAÇÃO ENDOVENOSA

Pesquisadores:

Mauricio Serra Ribeiro: tel: 36022998; email: mribeiro@fmrp.usp.br
Edwaldo Edner Joviliano: tel: 36022406; email: eejov@fmrp.usp.br
Carlos Eli Piccinato: tel: 36022407; email: cpecinn@fmrp.usp.br
Fabíola Traina: tel: 36022978; email: ftraina@fmrp.usp.br
Carlos Augusto Schreiner: tel 45 99976 4343; email: carlosaugustosch@gmail.com.br

Introdução:

Este documento descreve o estudo para o qual você está sendo convidado a participar e o que o estudo envolverá. Leia este documento com cuidado e não hesite em fazer qualquer pergunta a qualquer momento.

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Cabe a você decidir se quer participar ou não. Se decidir participar, você receberá uma via assinada deste documento para guardar. Ainda, se decidir participar, você pode mudar de ideia em qualquer momento e se retirar do estudo sem dar explicações. Isso não irá afetar o padrão de assistência médica que recebe.

Natureza e objetivo do estudo:

Você está sendo convidado a participar deste projeto por ser portador de varizes de membros inferiores com indicação de tratamento cirúrgico e ter optado por este tratamento. A intenção do projeto é estudar uma complicação rara, porém possível, que é a trombose venosa profunda (TVP) de membros inferiores, definida como o fechamento de veias profundas das pernas por coágulos, no pós-operatório da correção de varizes. Ao participar desse trabalho você estará contribuindo para o

melhor entendimento desta complicação relacionada à de cirurgia de varizes e contribuir para melhorar a assistência médico-cirúrgica.

Neste estudo, coletaremos amostras de sangue de veias do braço e realizaremos exames de ultrassom das pernas antes e depois do tratamento cirúrgico de varizes por duas técnicas reconhecidamente eficazes e seguras pela comunidade científica e autorizadas pela ANVISA. Estas duas técnicas são a cirurgia convencional de varizes com a retirada da veia safena magna (safenectomia) através de cortes nas pernas ou pela termoablação venosa, utilizando-se de cateteres de radiofrequência inseridos dentro da veia safena magna através de punção com agulha. Neste caso, a safena magna não é retirada, mas sim ocluída (fechada) devido ao calor que este cateter transmite para a veia. Não se trata de técnicas experimentais, mas sim de técnicas de rotina no tratamento cirúrgico de varizes e reconhecidas há muito tempo pela comunidade científica, com resultados e segurança similares. Reitero que estudos com grande número de pacientes não mostraram superioridade de uma técnica sobre a outra em termos de resultados, no entanto a recuperação após a cirúrgica de pacientes submetidos à termoablação por radiofrequência se mostrou melhor, com menos dias para os pacientes voltem ao trabalho ou às suas atividades diárias. Em relação à coleta de sangue de veia superficial do braço, que nada se diferencia das coletas de sangue já realizadas para outros fins, envolve a doação de pequenas amostras de sangue, cerca de três colheres de sopa (30ml). As sobras das amostras de sangue que não forem usadas serão desprezadas. Estas amostras de sangue serão utilizadas para dosar substâncias no sangue que podem estar relacionadas com trombose venosa profunda (TVP) cuja complicação mais temida é a embolização pulmonar. Embolia pulmonar pode ser definida quando um pedaço do trombo se desprende da veia trombosada e vai parar na circulação pulmonar. Isto pode acarretar graus variados de falta de ar e até mesmo a morte dependendo, mas não somente, da quantidade de trombos que embolizaram. Os ultrassons e a coleta de sangue não acarretarão nenhum prejuízo, atraso ou risco adicional ao procedimento em si. Os riscos, complicações ou efeitos adversos são os mesmo para ambas as técnicas em que a mais grave seria trombose venosa profunda e embolia pulmonar. Outras complicações possíveis são: manchas na pele, dor e desconforto no pós-operatório, dor neuropática transitória ou permanente, linfedema pós-cirúrgico, infecção de pele ou úlceras de pele. Reforço que os exames de ultrassons e a coleta de sangue não acarretarão riscos adicionais aos voluntários. Os riscos são os

inerentes ao procedimento cirúrgico em si os quais já são realizados de rotina no tratamento cirúrgico de varizes. Em caso de complicação o voluntário pode entrar em contato diretamente com o Hospital Estadual de Américo Brasiliense pelo número: ---------, para que sejam realizados os devidos procedimentos médicos para cada caso.

Os benefícios para o participante são os resultados esperados do procedimento cirúrgico em si em que as varizes e a insuficiência venosa são tratadas. Dentre outros os benefícios são: a melhora da dor, edema e desconforto nas pernas e cicatrização de úlceras venosas caso estejam presentes. Além disso, um seguimento mais rigoroso do pós-operatório será realizado com ultrassonografias seriadas que habitualmente não são realizadas com tal frequência.

A forma de acompanhamento e assistência será feita através de retornos para consultas e exames de ultrassons e eventualmente, também, por contatos telefônicos. Você tem garantia de esclarecimentos, antes, durante e depois de sua participação na pesquisa e está livre para entrar em contato com os investigadores a qualquer momento pelos telefones que estão no cabeçalho deste documento.

Duração do estudo:

A sua participação como voluntária se iniciará no pré-operatório durante a preparação para a cirurgia e se encerrará 6 meses após o procedimento. Tempo total de 6 a 8 meses, você realizará um ultrassom antes da cirurgia, em 24 horas após a cirurgia e terá um retorno para exame clínico em 6 a 8 meses após a cirurgia. Quanto à coleta de sangue, esta será realizada antes da cirurgia e após 24 horas da mesma.

Procedimentos do estudo:

A coleta de sangue trará dor leve e pode deixa um hematoma (marca roxa) no local da picada. O estudo não trará benefício direto para você, além daqueles decorrentes do tratamento cirúrgico de varizes. No entanto, os dados obtidos com a coleta de sangue poderão ajudar a descobrir formas de melhorar o tratamento desta doença. Portanto, é possível que a sociedade possa se beneficiar deste estudo. Existe, ainda, uma possibilidade de que as informações obtidas neste estudo possam ajudar no desenvolvimento futuro de um novo modo de tratamento ou prevenção para pacientes que sofrem da mesma condição que você. Quanto aos exames de ultrassom não há risco de complicações diretas ou indiretas.

Custos, não remuneração e compensação:

Não haverá remuneração e nem ressarcimento de despesas com transporte e/ou alimentação. Você tem direito a indenização conforme as leis vigentes no país, caso ocorra dano decorrente de sua participação na pesquisa.

Garantias:

Você tem a garantia que receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, assinado e rubricado em todas as páginas por você e pelo pesquisador. Além disso, tem a garantia de acesso aos resultados da pesquisa quando estes estiverem disponíveis.

Confidencialidade:

A garantia de sigilo dos seus dados, de acordo com as normas brasileiras, será assegurada. Os tubos coletados serão numerados, sendo de conhecimento exclusivo do pesquisador principal a qual paciente corresponderá. Exemplo: o número identificador 1 para José Antônio, portanto tubos 1 são amostras de sangue do paciente José Antônio. No entanto, existem riscos mínimos de quebra de privacidade e/ou confiabilidade.

Participação voluntária:

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária. Você não é obrigado a participar. Seu tratamento e relacionamento com seu médico não serão afetados pela sua decisão de participar ou não deste estudo. Você pode retirar a seu consentimento em qualquer fase da pesquisa e caso você se recuse a participar deste estudo, você não será penalizado de nenhuma forma e sua decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual você tem direito.

Outras informações importantes:

Contato do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (16) 3602-2228 para dúvidas éticas

O investigador principal deste estudo médico é o Dr. Mauricio Serra Ribeiro que pode ser encontrado no seguinte endereço: Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – HCFMRP-USP – Av. Bandeirantes, 3900 – 9º andar – Departamento de Cirurgia e Anatomia – Campus Universitário – Monte Alegre – CEP: 14049-900 – Ribeirão Preto/SP e telefone (horário comercial) (16) 3602 2998 e celular: (16)981298608

1. Eu li ou leram para mim o termo de consentimento livre e esclarecido para esse estudo. Recebi todas as explicações sobre a natureza, objetivo, duração,

efeitos e riscos previsíveis do estudo, assim como sobre as minhas responsabilidades. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.

2. Concordo em participar do estudo. Concordo em cooperar totalmente com o médico e entrar em contato com ele quando necessário para esclarecimento de dúvidas ou dos próximos passos do estudo.
3. Informei ao médico do estudo sobre todas as minhas doenças e medicações que venho usando, além de informar sobre todas as minhas consultas médicas recentes.
4. Informei também ao médico do estudo sobre qualquer participação minha em outros estudos clínicos no último ano.
5. Entendo que minha participação no estudo é voluntária e que posso me recusar a participar ou posso sair do estudo a qualquer momento. Caso eu me recuse a participar deste estudo, não serei penalizado de nenhuma forma e minha decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual eu tenha direito.
6. Recebi a segunda via assinada deste consentimento.

Nome do participante:_____assinatura:_____ data:_____
Nome do pesquisador:_____assinatura:_____ data:_____
Nome da testemunha: _____assinatura: _____ data:_____

Investigador / subinvestigador ou pessoa que conduziu a discussão sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: "Confirmo que expliquei pessoalmente a natureza, propósito, duração, efeitos e riscos previsíveis do estudo ao paciente acima mencionado."

Nome do pesquisador:_____assinatura:_____ data:_____

APÊNDICE D

Parecer de Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ribeirão Preto, 19 de abril de 2017.

Ofício nº 1173/2017
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 2600/2017

Prezado Pesquisador,

O trabalho intitulado **"BIOMARCADORES COMO PREDITORES DE TROMBOSE VENOSA NO TRATAMENTO DE VARIZES POR TERMOABLAÇÃO ENDOVENOSA" – Projeto de Pesquisa Versão 03/04/2017,** foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 448ª Reunião Ordinária realizada em 17/04/2017, e enquadrado na categoria: **APROVADO,** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 03/04/2017.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/2012 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
MAURÍCIO SERRA RIBEIRO
Depto. de Cirurgia e Anatomia

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP
Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e
Registro Plataforma Brasil /CONEP nº 5440
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br

APÊNDICE E

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "Perfil de Marcadores Trombogênicos como preditores de Trombose Venosa no Tratamento de Varizes"

Pesquisador Responsável: Maurício Serra Ribeiro

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 65091814.7.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP

Patrocinador Principal: FAPESP (2019/11485-1) e financiamento próprio