

# TESTES LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO DA HEMOFILIA A

Artigo de referência bibliográfica para conclusão da Especialização em  
Hematologia Avançada

Carolina Bertoque Crociari

## **Resumo**

A hemofilia A é uma doença hemorrágica hereditária causada pela deficiência do fator VIII da cascata de coagulação. Por ser uma doença recessiva ligada ao X acomete os homens sendo 1 a cada 5.000 indivíduos. O critério para o diagnóstico é a utilização dos testes de coagulação ( coagulograma) que cursa com o exame TP (Tempo de Protrombina) normal e TTPa (Tempo de tromboplastina parcial ativado) prolongado. O tratamento das pessoas com hemofilia A consiste na reposição do Fator VIII com hemocomponentes, com hemoderivados ou com recombinantes gênicos Com os avanços nos estudos sobre a Hemofilia A já é possível pensar em terapia gênica para a cura desta doença.

Palavras-chaves: **Hemofilia. Diagnóstico. Terapia gênica.**

**Academia de Ciência e Tecnologia de São Jose do Rio Preto  
Abril/2012**

## **Introdução**

A hemofilia A é caracterizada pela deficiência do Fator XIII da coagulação, uma glicoproteína que participa da via intrínseca da coagulação. A hemofilia é uma doença hemorrágica hereditária ligada ao cromossomo X sendo sua manifestação clínica mais comum a hematrose e sangramentos. A severidade da doença está diretamente relacionada com a extensão da deficiência de FVIII, e que pode se manifestar sob as formas clínicas severa, moderada e leve. Para estabelecer o diagnóstico desta patologia é importante avaliar a história do paciente e de familiares com relato de manifestações hemorrágicas, o exame físico e testes laboratoriais de coagulação sanguínea. Havendo suspeita de hemofilia A, deve ser dosado o FVIII; será confirmado o diagnóstico quando demonstrada a deficiência deste fator. O tratamento das pessoas com hemofilia A consiste na reposição do Fator VIII com hemocomponentes, com hemoderivados ou com recombinantes gênicos.

## **Objetivo Geral**

Este artigo tem como objetivo fazer uma revisão sobre a Hemofilia A e seu diagnóstico laboratorial e alguns conceitos sobre terapia gênica para portadores desta patologia.

## **Objetivo Específico**

Diagnóstico em indivíduo portador de Hemofilia A e a eficácia do tratamento com a terapia gênica.

## 1. Hemostasia

O aparelho circulatório dos seres humanos constitui-se em sentido geral, de um sistema de tubos fechados, que impede que seu conteúdo, o sangue, escape para banhar diretamente os tecidos. Os fatores vasculares e sanguíneos devem estar em equilíbrio, permitindo que o sangue permaneça líquido no interior dos vasos. O rompimento desse equilíbrio, qualquer que seja a natureza, poderá levar, além de um extravasamento sanguíneo, a uma alteração de fluidez, tornando o sangue um gel, dificultando ou impedindo a circulação no local de sua formação, devido à massa sólida de sangue formada, chamada de trombo. A lesão do vaso sanguíneo desencadeia três importantes mecanismos para controlar a perda de sangue. Inicialmente há a contração do músculo liso da parede do vaso lesionado. Posteriormente, ocorre a aderência das plaquetas circulantes no sítio da lesão (adesão plaquetária) e posterior adesão de outras plaquetas às já aderidas ao sítio de lesão (agregação plaquetária), fenômenos que dão origem ao tampão plaquetário. Finalmente, a coagulação do sangue permite, mediante a uma rede de fibrina, a

consolidação do tampão plaquetário com formação de tampão hemostático.

## 1.2. Componentes do processo hemostático

As células endoteliais modulam vários aspectos, freqüentemente opostos, da hemostasia normal. Por um lado, normalmente possuem propriedades antiplaquetárias, anticoagulante ou fibrinolítica; por outro lado após uma lesão ou ativação, são capazes de exercer funções pró-coagulantes. O equilíbrio entre as atividades endoteliais antitrombóticas e pró-trombótica determina criticamente se ocorrerá formação, propagação ou dissolução do trombo.

Após uma lesão vascular, as plaquetas encontram constituintes da matriz extracelular, que normalmente estão seqüestrados abaixo do endotélio intacto, estes incluem o colágeno, proteoglicanas, fibronectina e outras glicoproteínas aderentes. A participação das plaquetas na coagulação sanguínea segue: *agregação primária* – descontinuidade do endotélio produzida por lesão vascular é seguida pela absorção de proteínas do plasma sobre o

colágeno adjacente, formando o tampão plaquetário; *agregação secundária* – as plaquetas do tampão plaquetário liberam ADP, que é um potente indutor da agregação plaquetária; *coagulação do sangue* – durante a agregação das plaquetas, fatores do plasma sanguíneo, dos vasos lesados e das plaquetas promovem a interação sequencial (em cascata) de cerca de 13 proteínas plasmáticas, formando assim o coágulo sanguíneo, mais consistente que o tampão plaquetário; *retração do coágulo* – o coágulo faz grande saliência para o interior do vaso, mas logo se contrai, graças à ação da actina, miosina e ATP das plaquetas; *remoção do coágulo* – protegida pelo coágulo, a parede do vaso se restaura pela formação de tecido novo. Então o coágulo é removido também pelas enzimas liberadas pelos lisossomos das plaquetas.

## **2. Coagulação**

A coagulação sanguínea é uma sequência complexa de reações químicas que resultam na formação de um coágulo de fibrina. Em um indivíduo normal, a coagulação é iniciada dentro de 20 segundos após a

lesão ocorrer. A coagulação é semelhante nas várias espécies de mamíferos. Em todos eles o processo envolve um mecanismo combinado de células (plaquetas) que leva a formação do tampão plaquetário e esta é chamada de hemostasia primária, e componentes do plasma (fatores de coagulação) que leva a uma cascata de reações para formar a fibrina chamada de hemostasia secundária.

### **2.1. Mecanismos de coagulação sanguínea**

Existem dois mecanismos intimamente relacionados, sendo estes o mecanismo intrínseco e mecanismo extrínseco que, quando estimulados levam a geração da fibrina. Em 1964, Macfarlane e Davie & Ratnoff propuseram a hipótese da “cascata” para explicar a fisiologia da coagulação do sangue. A coagulação ocorre por meio de ativação proteolítica, sequencial de zimógenos, por proteases do plasma, resultando na formação de trombina que, então, converte a molécula de fibrinogênio em fibrina. A coagulação divide-se em uma via extrínseca (envolvendo componentes do sangue, mas também elementos que usualmente não estão presentes no espaço

intravascular) e uma via intrínseca (iniciada por componentes presentes no meio intravascular), que convergem no ponto de ativação do fator X (“via final comum”). Na via extrínseca, o fator VII plasmático (na presença do seu cofator, o fator tecidual ou tromboplastina) ativa diretamente o fator X. Na via intrínseca, ativação do fator XII ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície, contendo cargas elétricas negativas (por exemplo, a parede de um tubo de vidro). Tal processo é denominado “ativação por contato” e requer ainda a presença de outros componentes do plasma: pré-caliceína (uma serinoprotease) e cininogênio (um cofator não enzimático). O fator XIIa ativa o fator XI, que, por sua vez, ativa o fator IX. O fator IXa, na presença de fator VIII, ativa o fator X da coagulação, desencadeando a geração de trombina e subsequente formação de fibrina. Tão importante quanto à formação do coágulo de fibrina é a remoção do coágulo sanguíneo, para que se prossiga a circulação sanguínea normal esse processo recebe o nome de fibrinólise (processo de dissolução do coágulo de fibrina). A fibrinólise se produz pela digestão da fibrina por uma enzima proteolítica, a plasmina, que circula no plasma na sua forma inativa, o plasminogênio. A regulação da

fibrinólise se produz por liberação de um ativador tecidual a caliceína (Bozzini, 2004). Quando a fibrina é degradada em fragmentos menores, os restos de plaquetas e outros materiais celulares são liberados na malha de fibrina e removidos pelo sistema retículo endotelial.

### **3. Hemofilia**

A Hemofilia é uma coagulopatia hereditária. As coagulopatias hereditárias são doenças hemorrágicas resultantes da deficiência ou anormalidade de uma ou mais proteínas plasmáticas da coagulação e têm como característica comum a dificuldade de formação de fibrina, resultando em sangramentos anormais. Apresentam quadro clínico, laboratorial e transmissão genética distintos entre si, sendo necessário diagnóstico diferencial para a correta orientação terapêutica. Sob um critério estritamente etiológico, essas moléstias podem ser agrupadas, de acordo com o fator alterado, em deficiência de fibrinogênio, protrombina, fator V, fator VII, fator VIII (hemofilia A), fator IX (Hemofilia B), fator X, fator XI, fator XII, fator XIII e Fator de Von Willebrand. No Brasil, 71% dos casos de doença hemorrágica são causados pela hemofilia A e 11,6%, pela hemofilia B, estando os

17,4% restantes relacionados às formas clinicamente significativas da doença de Von Willebrand e a outras deficiências de fatores de coagulação.

O diagnóstico definitivo depende da pesquisa do fator para demonstrar deficiência de Fator VIII ou Fator IX. A gravidade das manifestações hemorrágicas nas hemofilias é geralmente correlacionada com os níveis de atividade do fator da coagulação.

### 3.1. Hemofilia A

É um dos distúrbios hereditários da coagulação mais comumente observados, sua incidência é de aproximadamente 1 (um) para cada 5.000 nascimentos do sexo masculino

devido esta ser uma doença hereditária recessiva ligada ao cromossomo X tendo um gene anormal na posição Xq28, sendo que as mulheres não são afetadas e atuam como portadoras.

Sabe-se que a hemofilia A é causada pela ausência, deficiência severa ou defeitos na função do fator anti-hemofílico (VII) presente no plasma levando esta a principal doença causadora de hemorragias e sangramentos severos principalmente nas articulações e músculos. Estes sangramentos são causados devido a produção de trombina estar marcadamente diminuída levando assim a retardação da formação do coágulo. A hemofilia A pode ocorrer nas formas leve, moderada e severa, variando conforme os níveis de fator VII funcionais no plasma.

---

<b>Classificação</b>	<b>Nível de fator VII ativo</b>	<b>Achados clínicos</b>
Leve	De 6 a 30% do normal	Hemorragias e Hematroses
Moderada	De 2 a 5% do normal	Hemorragias a traumas e cirurgias.
Grave	Até 1% do normal	Hemorragias secundarias a traumas ou cirurgias, raras hemorragias espontâneas.

---

## **Tabela 1** – Manifestações clínicas da hemofilia

No diagnóstico das hemofilias a história clínica do paciente forma a base do diagnóstico dos distúrbios hemorrágicos. Alguns sinais e sintomas direcionam sobremaneira no diagnóstico deste distúrbio que pode ser dividido em distúrbios de hemostasia primária e hemostasia secundária. Alguns dos sintomas são hemorragias na pele, sangramento nas mucosas, sangramento traumático e pós-cirúrgico e hematroses, estes são sintomas clássicos da hemofilia clássica. A avaliação laboratorial inicia-se por testes de *screening* que detectam as alterações tanto da hemostasia primária quanto na secundária.

### **4. Diagnóstico laboratorial**

Nas suspeitas de sangramentos por baixa atividade do fator VIII, é necessário fazer inicialmente um diagnóstico diferencial, o que na prática laboratorial consiste no coagulograma que é composto pelo tempo de coagulação (TC), tempo de sangramento (TS), prova do laço (PL), retração do coágulo (RC), tempo de protrombina (TP), tempo de

tromboplastina parcial (TTP) e avaliação plaquetária.

Na hemofilia A, a contagem de plaquetas, tempo de sangramento e TP estão normais e somente o TTPa está alterado estando com seu tempo prolongado devido este ser altamente sensível as deficiências dos fatores XIII e IX, por isso imprescindível para o diagnóstico da hemofilia A que cursa com deficiência do fator XIII. Dosagem dos fatores de coagulação pode ocorrer quando os exames de triagem se encontram alterados, sendo utilizada a técnica do TP (para dosagem dos fatores de coagulação da via extrínseca) ou do TTPa (para dosagem dos fatores de coagulação da via intrínseca). A determinação destes fatores consiste em misturar o plasma do paciente a um plasma adquirido comercialmente quando o plasma daquele é deficiente do fator que se quer dosar. Deste modo, a coagulação será dependente da presença do fator na amostra do paciente. Assim, comparando um plasma reagente que seja deficiente em fator VIII com os demais fatores normais, observa-se que, quando ele é misturado ao plasma do paciente, a concentração do fator VIII na mistura é dependente da

concentração de fator VIII no plasma do mesmo. Se houver carência do fator VIII, a coagulação será deficiente, mas se o paciente não tiver deficiência deste fator, a coagulação ocorrerá normalmente. Uma curva de concentração de fator VIII é feita a partir de um plasma de referência adquirido comercialmente, cuja função é medir a concentração de fator VIII no plasma do paciente, procedimento feito a partir do TTPa.

## **5. Terapia gênica**

Dentre todas as doenças genéticas, especialmente a hemofilia A, apresenta a combinação de fatores que a faz uma das candidatas mais favoráveis à terapia de reposição gênica. As manifestações clínicas desta doença são ocasionadas pela falta de um único produto gênico, fator VIII, que circula no plasma em pequenas quantidades. Não é necessário um controle muito rigoroso da expressão gênica, visto que um pequeno aumento nos níveis dessa proteína (fator VIII) melhora os sintomas nos casos severos. O tratamento atualmente disponível consiste na reposição periódica de produtos plasmáticos humanos ou

proteínas recombinantes que são sintetizadas em tecidos de cultura. A terapêutica ideal seria aquela que proporcionasse produção endógena contínua destes fatores, protegendo o paciente de sangramentos e agentes infecciosos que possam estar presentes nas terapias de reposição. Teoricamente, este objetivo pode ser alcançado com a terapia gênica.

A terapia gênica nos doentes hemofílicos permite que as células com os genes do fator VIII sejam induzidas a produzir este fator deficiente. Para que isto ocorra, são necessários o veículo ou vetor de transporte dos genes, o gene a transferir e a célula alvo específica. Esta última deve sobreviver um longo período de tempo e ter fácil acesso à circulação sanguínea. O epitélio intestinal é um alvo atrativo para a terapia gênica da hemofilia, por conta de sua divisão celular acelerada.

Os vetores de transporte dos genes utilizados são retrovírus, adenovírus e adeno associados. Estes vetores são alterados para impedir sua reprodução dentro das células. Alguns estudos vêm analisando a viabilidade de uma terapia gênica baseada na liberação de fatores virais, os quais seriam responsáveis pela expressão do fator VIII. Entretanto, a terapia gênica envolve alguns obstáculos, cuja origem



está no fato de nosso corpo gerar rejeição ao gene ou destruir o seu produto. O outro problema está relacionado com a dimensão do fator VIII, que, por ser grande, torna difícil seu transporte para o interior da célula. Desconhece-se ainda a dosagem correta intravenosa dos vírus produtores dos fatores carentes, sendo que uma dose baixa pode vir a não produzir nenhum efeito e uma dose mais alta ser tóxica e provocar problemas hepáticos.

Apesar das dificuldades a terapia gênica é importante, já que poderá ser um caminho para a cura da Hemofilia A.

## 6. Conclusão

Diante do exposto, percebe-se que a hemofilia é uma doença rara embora complexa quanto ao diagnóstico e tratamento. O diagnóstico apurado é de suma importância e essencial para o tratamento ser efetivo. Para estabelecer o diagnóstico desta patologia é importante avaliar a história de familiares e do paciente com relato de manifestações hemorrágicas, o exame físico e o resultado dos testes laboratoriais de coagulação sanguínea.

Neste trabalho procurou-se

caracterizar a hemofilia A segundo manifestações clínicas, seu diagnóstico a fim de levar mais conhecimento sobre esta doença.

## Referência Bibliográfica

- <http://genetica.ufcspa.edu.br/seminarios%20textos/HemofiliaA.pdf>  
<http://www.hemofiliabrasil.org.br/publicacoes.php>  
[http://www.fmrp.usp.br/revista/2001/vol34n3e4/fisiologia\\_coagulacao.pdf](http://www.fmrp.usp.br/revista/2001/vol34n3e4/fisiologia_coagulacao.pdf)  
<http://www.fleury.com.br/Medicos/Saud eEmDia/ManualHematologia/pages/Coagula%C3%A7%C3%A3oAnticoagula%C3%A7%C3%A3oeFibrin%C3%B3lise.aspx>
- Bozzini C.E. & Molinas F. 2004. Hemostasia. In: Houssay A.B., Cirgolani H.E. fisiologia Humana de Houssay, 7 ed. Artmed, Porto Alegre.
  - Cotran R.S. & Mitchel R.N. 2000. Distúrbios Hemodinâmicos, trombose e choque. In: Cotran R.S. Kumar V. & Collins T. Robins: Patologia estrutural e Funcional, 6 Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
  - Verrastro T. 1999. Hemostasia. In: Aires M.M. Fisiologia, 2 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
  - MacFarlane R.G. 1964. “Na enzyme

cascade in the blood clotting mechanism, and function as a biochemical amplifier". *Nature* 202: 498-9 DOI:10.1038/202498a0. PMID 14167839

- Davie EW, Ratnoff OD. (1964).

"Waterfall sequence for intrinsic blood clotting". *Science* 145: 1310-2.

DOI:10.1126/science.145.3638.1310.PMID 14173416

- PINTO, G. M. ; LIMA, N. G. ;

GRANDO, R. D. Hemofilia A.

Disponível em:

<<http://www.genetica.ffcmpa.tche.br/seminarios%20textos/HemofiliaA.pdf>>.

- ROSSI-FERREIRA, R. et al.

Obtenção e caracterização de anticorpo monoclonal murino anti-fator VIII da coagulação sanguínea. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, Botucatu, SP, v. 30, n. 1, p.97-104, 2006







