

LARRY JIMENEZ ALVES

**HEMOFILIA: FISIOPATOLOGIA E DIAGNÓSTICOS**

ACT- ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

FEVEREIRO/2020

LARRY JIMENEZ ALVES

**HEMOFILIA: FISIOPATOLOGIA E DIAGNÓSTICOS**

Artigo Científico apresentado à  
ACT- Academia de Ciência e  
Tecnologia para a obtenção do  
grau de Especialista em  
Hematologia e Banco de  
Sangue

Aprovado: \_/\_/\_

ACT- ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

## HEMOFILIA: FISIOPATOLOGIA E DIAGNÓSTICOS

### RESUMO

A hemofilia é um sério distúrbio hereditário da coagulação sanguínea, que ocorre pela deficiência da atividade coagulante do fator VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). A doença ocorre devido as alterações nos genes codificantes dos fatores localizados no braço longo do cromossomo sexual X. Sendo assim, sua ocorrência no sexo masculino é quase que exclusiva, devido o homem ter somente um cromossomo X. A gravidade da doença pode variar em severa, moderadamente severa e leve, após dosagem dos fatores VIII e IX da coagulação. Atualmente o diagnóstico das hemofilias é baseado na quantificação da atividade coagulante dos fatores VIII (FVIII:C) e IX (FIX:C) pela técnica coagulométrico e quantificação do FVIII:C, pelo método cromogênico. Novos estudos de técnicas inovadoras e estudos moleculares vem sendo desenvolvidas, para auxiliar no melhor diagnóstico e monitoração da doença em sua possível evolução.

**Palavras-chave:** Hemofilia, diagnóstico, transtornos hemorrágicos.

### ABSTRACT

Hemophilia is a serious inherited disorder of blood clotting, which occurs by deficiency of factor VIII (hemophilia A) or IX (hemophilia B) coagulant activity. The disease occurs due to changes in the genes coding for the factors located in the long arm of the sex X chromosome. Therefore, its occurrence in males is almost exclusive, due to the fact that men have only one X chromosome. The severity of the disease can vary from severe, moderately severe and mild, after the coagulation factors VIII and IX are measured. Currently the diagnosis of hemophilia is based on the quantification of the coagulant activity of factors VIII (FVIII: C) and IX (FIX: C) by the coagulometric technique and quantification of FVIII: C, by the chromogenic method. New studies of innovative techniques and molecular studies are being developed to assist in the better diagnosis and monitoring of the disease in its possible evolution.

**Keywords:** Hemophilia, diagnosis, hemorrhagic disorders.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 MÉTODOLOGIA</b> .....	6
<b>3 DESENVOLVIMENTO</b> .....	6
<b>3.1 Histórico da Hemofilia</b> .....	6
<b>3.2 Caracterização da Hemofilia</b> .....	7
<b>3.3 Coagulação sanguínea</b> .....	9
<b>3.4 Hemofilia A</b> .....	10
<b>3.5 Hemofilia B</b> .....	11
<b>3.6 Diagnósticos</b> .....	11
<b>3.6.1 Tipos de exames de coagulação</b> .....	11
<b>3.6.2 Método modificado</b> .....	13
<b>3.6.3 Técnica inovadora</b> .....	13
<b>3.6.4 Técnica molecular</b> .....	14
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	15
<b>5 REFERÊNCIAS</b> .....	16

## 1 INTRODUÇÃO

As coagulopatias tem como característica a deficiência qualitativa ou quantitativa dos fatores de coagulação, sendo adquiridas ou hereditárias. Dentro das coagulopatias hereditárias, tem se como principal a hemofilia A, a hemofilia B e a doença de Von Willebrand (FUJIMOTO *et. al* 2005).

A hemofilia é um sério distúrbio hereditário da coagulação sanguínea, que ocorre pela deficiência da atividade coagulante do fator VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B) (BRASIL, 2015). A hemofilia A, conhecida como clássica, afeta em torno de 85% dos pacientes, enquanto a hemofilia B, conhecida como Fator Christmas, atinge cerca de 15% dos pacientes (RODRIGUES, 2005).

A prevalência das hemofilias nos vários grupos étnicos é de aproximadamente 1:10.000 e 1:40.000 a 50.000 nascimentos masculinos (BRASIL.2011). Desta forma, a cada 10 mil indivíduos do sexo masculino nascidos 1-2 são atingidos com a doença (CHAVES, RODRIGUES. 2009). No Brasil, em 2007, foi elaborado um panorama da distribuição de todas as coagulopatias hereditárias, pela Coordenação de Política Nacional de Sangue e Hemoderivados (CPNS), baseado em informações fornecidas pelos Estados. A pesquisa relatou a existência de 8.168 pacientes cadastrados, dos quais 6.885 portadores de hemofilia A e 1.283 portadores de hemofilia B (MANSO, 2011).

A doença ocorre devido as alterações nos genes codificantes dos fatores localizados no braço longo do cromossomo sexual X. Desse modo, sua ocorrência no sexo masculino é quase que exclusiva, devido o homem ter somente um cromossomo X. A gravidade da doença pode variar em severa, moderadamente severa e leve, após dosagem dos fatores VIII e IX da coagulação (COLOMBO, ZANUSSO JUNIOR. 2013).

Atualmente o diagnóstico das hemofilias é baseado na quantificação da atividade coagulante dos fatores VIII (FVIII:C) e IX (FIX:C) pela técnica coagulométrico e quantificação do FVIII:C, pelo método cromogênico (RODRIGUES, 2018).

Diversos métodos vêm sendo estudados, como o Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR) e o Sequenciamento de nova geração (NGS), que tem como

finalidade analisar e detectar possíveis alterações nos genes dos fatores VIII e IX (RODRIGUES, 2018).

Por essa razão verifica-se a necessidade de estudos sobre o assunto, realizando-se um levantamento sobre o tema hemofilia e novos métodos de diagnósticos disponíveis para a doença. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico para relatar sobre a hemofilia mostrando as técnicas laboratoriais para detecção e acompanhamento dos hemofílicos.

## **2 MÉTODOLOGIA**

Para alcançar os objetivos propostos, foi realizada uma revisão de literatura no formato narrativo, que se constitui na seleção de estudos, coleta de dados e comparação desses dados (MINAYO; CAVALCANTE, 2010). As bases bibliográficas utilizadas para o desenvolvimento do trabalho foram: PubMed (US National library of medicine), SCIELO (Scientific Electronic Library Online), com os sites de busca do Google Acadêmico e os repositórios institucionais ARCA (Fiocruz). As palavras-chave para busca foram: hemofilia, coagulopatias, hemorrágica, também foi utilizado a combinação de duas palavras, doença hemorrágica, diagnóstico hemofilia, hemofilia e bases moleculares. O ano de publicação dos artigos utilizados estava entre os anos de 2000 a 2020, publicados nos idiomas português, espanhol e inglês.

## **3 Desenvolvimento**

### **3.1 Histórico da Hemofilia**

No decorrer da história, tem existido diversas referências a hemorragias excessivas e inexplicáveis (SILVA, 2015). Os primeiros relatos de Hemofilia humana são do século III DC, relatadas nos escritos judaicos (CHESP, 2019).

Existe uma descrição do século II, onde os rabinos, começaram a observar que alguns rapazes ao serem circundados sangravam em excesso, como a circuncisão é uma doutrina religiosa, eles tomaram algumas providências para que as famílias que se sabia

que tinham histórico de hemorragias nos bebês, os meninos nascidos daquelas famílias ficariam livres da prática (SOPHIA, 2010).

No século XII, um médico relatou uma doença que causava a morte dos homens de uma determinada aldeia devido a hemorragias incontroláveis. Mas no século XIX, reconheceu-se que, em certas famílias, havia uma predisposição a hemorragias; efetivamente, o termo hemofilia foi aplicado pela primeira vez em 1828 (SILVA, 2015). A doença ficou mais conhecida por suas consequências nas famílias reais da Europa, cabido a seu surgimento súbito entre os filhos da Rainha Victoria, da Grã-Bretanha. Essa doença ficou conhecida como a “doença Real”, porque se dissipou nas famílias reais europeias da Rússia, Prússia e Espanha através dos descendentes da Rainha Victoria (PINTO *et al.*, 2001).

### 3.2 Caracterização da Hemofilia

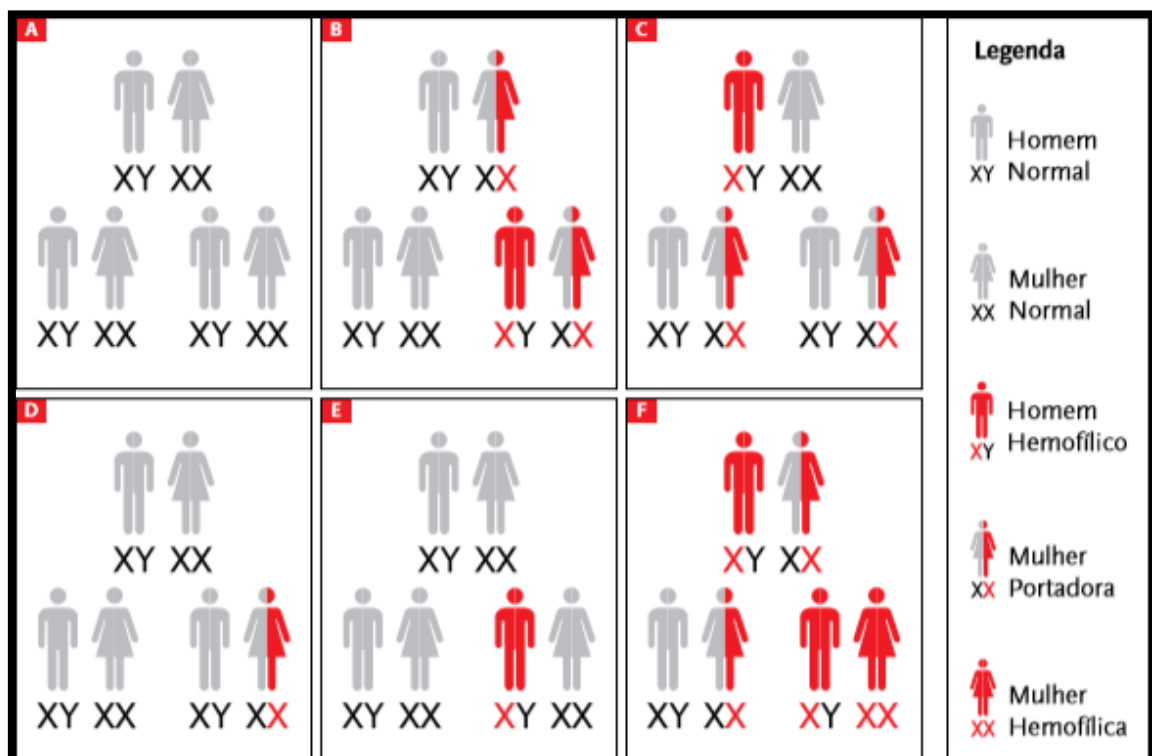
A hemofilia dentro da hematologia é classificada como uma coagulopatia ou distúrbio hereditário da coagulação sanguínea causada pela deficiência dos fatores VIII e IX da coagulação (proteínas plasmáticas do sangue encarregada pela ativação do processo de coagulação sanguínea) (SANTOS *et al.*, 2007). Na hemofilia A ocorre a deficiência do fator VIII (FVIII), e na hemofilia B, do fator IX (FIX). Ambas as doenças são de transmissão genética, ligadas ao cromossomo X, portanto, têm manifestações clínicas, na maioria dos casos, nos indivíduos do sexo masculino (SILVA, 2015). A adquirida é rara e pode ser caracterizada pela produção de anticorpos contra fatores de coagulação, podendo ser de causa principal ou podendo estar associada a doenças (MONTE, 2016; PINHEIRO *et al.*, 2017; ALCÂNTARA, 2019).

Uma pessoa quando hemofílica apresenta baixa quantidade do fator VIII ou fator IX, dessa maneira a formação da coagulação é interrompida antes que sua produção aconteça, ocasionando, os sangramentos que demoram mais tempo para serem controlados. Essa diminuição é causada devido a mutações no DNA, nas regiões que são responsáveis pela produção dessas duas proteínas (ALCÂNTARA, 2019).

Em relação as manifestações clínicas da forma hereditária, as mulheres contêm dois cromossomos X, dessa maneira, podem ser apenas portadoras como mostra a figura 3B, e raramente são afetadas pela doença, entretanto, as manifestações clínicas apresentadas pelos homens são ocasionadas por possuir somente um cromossomo X (figura 3C). Em 30% dos casos, a doença é ocasionada por mutações *de novo* (ou

esporádicas), o que pode acontecer na mãe ou no feto. As mutações podem ser de casos isolados ou com ocorrência somente em irmãos como pode ser visto na figura 3E. No caso das filhas de homens hemofílicos, elas serão obrigatoriamente portadoras (figura 3C). Embora ser incomum, a hemofilia também pode acontecer em mulher, no caso da união de um homem hemofílico e uma mulher portadora como ilustra a figura 3F. O mais habitual é mulheres portadoras apresentem níveis baixos de fator VIII ou fator IX, o que está relacionado com a inativação do cromossomo X “normal”, melhor dizendo, aquele que não leva a mutação associada a hemofilia, o processo de lionização (BRASIL, 2015; MONTE, 2016; ALCÂNTARA, 2019).

**Figura 1.** Hereditariedade da hemofilia



Fonte: BRASIL, 2015.

De acordo com Alcântara (2019) na hemofilia, existe pequenas quantidades ou até mesmo a ausência do fator de coagulação, fazendo com que a pessoa desenvolva crises hemorrágicas, que podem ser causadas por traumas e que podem afetar os músculos e as articulações.

As manifestações clínicas na hemofilia estão relacionadas de acordo com a intensidade, que são leve, moderada e grave, e são classificadas de acordo com a quantidade dos fatores VIII e IX. A forma leve apresenta-se entre 5% a 30% de fator na



composição sanguínea, na forma moderada apresenta 1% a 5% de fator na composição sanguínea e na forma grave corresponde a menos de 1% de presença do fator no sangue (BRASIL, 2015; PEREIRA, 2010).

A forma leve tem menos casos de hemorragias, podendo ser mais severas nos casos de traumatismos graves, extrações dentárias e cirurgias tendo a variação entre 5% e 30% da concentração do fator na corrente sanguínea (BRASIL, 2015). Quando o fator no sangue se apresenta entre 1% e 5% é de intensidade moderada, e se distingue por ter menos sangramentos espontâneos, porém, pode se apresentar acentuada hemorragia em traumas e cirurgias. A forma grave se apresenta por hemartroses, sangramentos espontâneos ou sangramentos após traumas em músculos. As articulações mais atingidas são joelho, tornozelos e cotovelos, que são as hemorragias mais frequentes, isto é, 80% dos sangramentos. Sangramentos estes que podem ocorrer também em outros locais, como pele e mucosas. Determinados hematomas podem desenvolver problemas graves na língua, pescoço, antebraço, panturrilha e músculo. As manifestações nos músculo e articulações são de dor, inchaço, movimentos limitados e elevação da temperatura no local atingido (ALCÂNTARA,2019; FBH, 2014).

### **3.3 Coagulação sanguínea**

Souza *et al* (2013) explica que sistema circulatório humano é um sistema de tubos fechados, o que impede que o sangue escape para os tecidos. Os fatores vasculares e sanguíneos devem estar em equilíbrio, o que evita a coagulação do sangue no interior dos vasos. Esse equilíbrio é chamado de hemostasia. O mecanismo hemostático consiste em três processos: hemostasia primária, coagulação (hemostasia secundária) e fibrinólise. Esses processos têm, em conjunto, a finalidade de manter a fluidez necessária do sangue, garantindo a integridade vascular, para impedir o extravasamento do sangue pelos vasos, ou obstrução do fluxo, pela presença de trombos (SILVA, 2015).

A hemostasia primária acontece com a presença das plaquetas, vasos sanguíneos e o Fator de von Willebrand (FvW), que é um multímero produzido naturalmente pelas células do endotélio. As plaquetas fazem uma contenção na região onde ocorreu a perda da integridade endotelial, isto é, a lesão, com o auxílio do FvW (SILVA,2015).

Na hemostasia primária, o Fator de von Willebrand, que tem forma enovelada, se liga ao colágeno subendotelial e às células endoteliais afetadas, essa ligação gera o desenovelamento do FvW, fazendo com que seus domínios A1 fiquem expostos e que

em seguida capturem e se liguem as plaquetas através de uma glicoproteína específica na superfície destas (GPIb). A interação A1-GPIb leva à ativação de outro receptor das plaquetas, a integrina GPIIb/IIIa, que se liga à sequência de adesão no domínio C1 do FvW, resultando em adesão plaquetária estável e levando à auto ativação das plaquetas (ROSSET, 2013). O complexo plaquetário IIB/IIIa se liga ao fibrinogênio que está circulando, fazendo com que assim haja a agregação plaquetária (STASSEN; ARNOUT; DECKMYN, 2004). Os vasos sanguíneos atuam através da vasoconstrição, fazendo com que haja uma redução do fluxo para a área lesionada (REZENDE, 2010; SILVA,2015).

Dentro hemostasia secundária, existe o procedimento de formação de fibrinogênio e rede de fibrina pela ativação da via da coagulação extrínseca e intrínseca. O rompimento do endotélio ocasiona à ativação da cascata, que resulta na modificação do fibrinogênio em fibrina, e essa ativação é desenvolvida devido o contato do plasma com dois componentes normalmente secretados no espaço extravascular, sendo eles, o fator tissular, presente na via extrínseca ou os fosfolípidos de carga negativa do subendotélio, presente na via intrínseca. Afinal, a fibrinólise, que tem como finalidade a dissolução da rede de fibrina da circulação no momento em que não for mais necessário.

A lesão no endotélio causa a ativação da cascata desenvolvendo a formação do fibrinogênio e fibrina (ROSSET, 2013; ZAGO, 2014; SILVA,2015).

De acordo com este contexto, verifica-se a necessidade dos fatores de coagulação e mencionar os problemas causados pela ausência ou baixa quantidade de apenas um deles. A ausência de algum fator no organismo é causa de diversas coagulopatias. Entre as mais conhecidas destacam-se as hemofilias A e B causadas por deficiência de FVIII e FIX, respectivamente (SILVA, 2015).

### **3.4 Hemofilia A**

A hemofilia A é um dos distúrbios hemorrágicos hereditários mais comuns. Essa coagulopatia resulta da deficiência ou do defeito do FVIII e pode apresentar-se sob graus variáveis de deficiência, resultando em tempo prolongado de coagulação sanguínea (SILVA, 2015). O gene desse fator está situado no Xq28, onde é a banda mais distal do braço longo do cromossomo X. Possui grandes dimensões, com 186 kb de comprimento, constituindo-se de 9 kb de DNA organizado em 26 éxons. A sua estrutura constituída em 3

domínios principais: A, B e C. O fator VIII é produzido principalmente no fígado e células endoteliais dos vasos sanguíneos e, após a sua formação, é liberado para a circulação sanguínea e junto ao FvW plasmático formam um complexo (COSTA, 2015; ALCÂNTARA,2019).

O quadro clínico da hemofilia A é caracterizado por sangramentos nas articulações (hemartroses), na pele, nos músculos, no trato gastrointestinal, no sistema nervoso central ou em qualquer outro local, afetado normalmente por traumatismos baques, quedas, extrações dentárias e cirurgias (BRASIL, 2015). O tratamento correto para a doença solicita infusões de concentrados do FVIII purificado de plasma humano ou FVIII recombinante (ALCÂNTARA,2019).

### **3.5 Hemofilia B**

A hemofilia B é uma doença determinada pela presença de um gene recessivo ligado ao cromossomo X que apresenta graus variados de deficiência de FIX anti-hemofílico (SILVA,2015). A banda citogenética Xq27.1 é onde o gene do fator IX está localizado e que possui 34 kb de DNA. É constituído por 8 éxons que dão origem a um RNAm de 1,4 kb, que é expresso somente nos hepatócitos. Além do mais, é uma glicoproteína dependente de vitamina K e de cadeia simples (AMADOR-MEDINA; VARGAS-RUIZA, 2013; ALCÂNTARA,2019).

O quadro clínico diferenciado da Hemofilia B pode ser percebido pelas diferentes mutações. A que se evidencia consiste na Hemofilia B de Leyden, no qual, os níveis do fator IX se elevam gradativamente de menos de 5% ao nascimento até mais de 30% após a adolescência. Manifesta hemorragias, sinais e sintomas de hemofilia na infância, mas que na puberdade apresenta um regresso (COSTA, 2015; ALCÂNTARA,2019).

### **3.6 Diagnósticos**

#### **3.6.1 tipos de exames de coagulação**

No diagnóstico de hemofilia deve se verificar sempre se existe história de sangramento fácil após pequenos traumas, ou espontâneo, podendo ser hematomas subcutâneos nos anos iniciais de vida, ou sangramento muscular ou articular em meninos

acima de dois anos, ou mesmo com história de sangramento excessivo após procedimentos cirúrgicos ou extração dentária (BRASIL,2015).

De acordo com essas informações, é realizado o coagulograma, que ajuda na identificação da origem dos sangramentos. No coagulograma é comum observar, nos casos de hemofilia, o aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) e tempo de protrombina (TP) normal, com exceção de alguns casos de hemofilia leve, onde o TTPa continua normal. Apesar da realização desses testes, o diagnóstico confirmatório se dá através da dosagem do fator como mostra a tabela 1 (ALCÂNTARA, 2019).

Tabela 1- Exames da coagulação

Exame	Valor de referência	Interpretação do exame
Contagem de plaquetas	240.000/mm <sup>3</sup>	Detecta trombocitopenia quando a contagem é inferior a 150.000 mm <sup>3</sup>
Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa)	Menor que 35 segundos podendo ocorrer variação entre 25-39 segundos	Alterações indicam deficiências ou inibidores dos fatores de coagulação na via intrínseca comum (Fatores como a pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular, XII, XI, IX, VIII, X, V, protrombina e fibrinogênio)
Tempo de Protrombina (TP)	Entre 10 e 14 segundos	Alterações mostram que há irregularidades nos fatores da coagulação, além da presença de inibidores que podem prolongar o TP (fatores V, VII, X, fibrinogênio ou protrombina)
Tempo de Trombina (TT)	Entre 9 e 12 segundos	Detecta desfibrinogemia (o teste mede o tempo de conversão de fibrinogênio em fibrina, que é a última fase da coagulação)
Tempo de Sangramento (TS)	Menor que 3 minutos	O tempo prolongado apontam anormalidades nas plaquetas, sendo estas quantitativa ou qualitativa (alterações indicam um defeito na interação plaqueta-vaso ou uma doença vascular primária).

Fonte: Adaptado ALCÂNTARA, 2019.

### 3.6.2 Método modificado

No estudo desenvolvido por Milos *et al* (2014) realizou-se a modificação da análise de tromboplastina parcial ativada (TTPa) em onda quantitativa, através de três parâmetros quantitativos (delta, ratio-1 e ratio-2) comparando-o com a atividade do fator VIII.

O TTPa modificado é um método que tem como finalidade de avaliar a hemostasia, com o benefício da análise em forma de onda quantitativa, e em que se tem a comparação dos resultados obtidos em várias fases; conseqüentemente, o teste mostra informações sobre o processo de coagulação em situações específicas. Essa onda de forma quantitativa é uma ferramenta de laboratório para avaliação de coagulações globais, já que obteve resultados superiores aos métodos que são considerados padrões nos laboratórios. A grande importância desse teste é a simplicidade, além do custo-benefício da medição de rotina, tornando o TTPa uma ferramenta muito simples e promissora para avaliação de coagulação nos pacientes com hemofilia A (MILOS, *et al.* 2014; VIJAY, *et al.* 2016; RODRIGUES, *et al.* 2018).

### 3.6.3 Técnica inovadora

Rodrigues *et al* (2018) mostra em seu artigo uma técnica classificada por eles como inovadora no diagnóstico da hemofilia, um trabalho realizado por Kocot *et al* (2015) desenvolveram o Biossensor de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR), que busca verificar a presença de aloanticorpos e de autoanticorpos. Na realização do teste, o FVIII foi colocado na superfície do Biossensor, em seguida a amostra do paciente e depois adicionou-se o fator IX ou fator Xa ativado (FXa), formando o complexo Tenase. A ausência da ligação significa que há presença de anticorpos inibidores na amostra do paciente.

Para melhorar a sensibilidade do teste na detecção de anticorpos inibidores (RODRIGUES *et al.* 2018), substituíram o antígeno FVIII por proteínas de ligação artificiais, conhecidas como DARPs (Designed Ankyrin Repeat Proteins), que foram selecionadas através do Ribosome Display (KOCOT *et al.* 2015). A técnica dos

DARPin tem como foco principal isolar os epítomos possibilitando a criação de assinaturas dos anticorpos anti-FVIII de pacientes com hemofilia A, visto que a ligação pode ser observada tanto pelo SPR quanto pelo método de ELISA (KOCOT *et al.* 2015).

Desse modo ambos os métodos de DARPin, o Biossensor SPR realiza medições competentes de identificar anticorpos inibidores, no entanto somente o Biossensor é capaz de realizar a diferenciação entre esses anticorpos dos não inibidores (RODRIGUES. *et al.*2018). O teste de ELISA, por sua vez, detecta esses anticorpos, porém não é capaz de realizar a diferenciação entre eles, podendo ocasionar resultados falso-positivos para anticorpos inibidores. Por outro lado, o Bethesda realiza a detecção somente de anticorpos inibidores, contudo existe dificuldades na quantificação através desse teste em baixas titulações (DUNCAN, COLLECUTT.2013).

O Biossensor SPR é uma técnica capaz de detectar, quantificar e verificar a atividade inibidora de autoanticorpos ou aloanticorpos, utilizando uma pequena quantidade de amostra de <math><200\mu\text{L}</math>, com duração de análise de menos de uma hora (KOCOT. *et al.* 2015). Deste modo, Rodrigues *et al.* (2018) afirma que, as duas metodologias apresentadas mostram-se promissoras como possíveis novos métodos de diagnóstico dos anticorpos inibidores de não inibidores associados às hemofilias, em relação aos métodos atuais.

#### **3.6.4 Técnica molecular**

O estudo de Lyu *et al* (2016) mostra a técnica de sequenciamento de alto rendimento nos genes F8 e F9, conhecida como sequenciamento de nova geração (NGS), em pacientes com hemofilia A. O NGS é um método que vem sendo utilizado no diagnóstico de doenças em várias áreas da saúde, como na análise de genes relacionados a diversos tipos de câncer e, recentemente, em patologias hematológicas (LIANG, J. *et al.*2016).

Os estudos de Bastida *at al* (2016) e Lyu *et al* (2016) mostram que, a técnica de NGS, é capaz realizar um diagnóstico da doença no campo molecular em todos os indivíduos e a identificação de novas mutações A técnica de NGS apresenta alta precisão, alta sensibilidade, também possibilita o rápido sequenciamento de grandes sequências de pares de bases de DNA abrangendo genomas inteiros, refletindo na

identificação de novas mutações, detecção de grandes mutações de inserção, deleção outros rearranjos.

Diversas técnicas de sequenciamento são limitadas, devido a leitura ser realizada em um número limitado de pares de bases, além do tempo de realização que é maior quando comparamos ao NGS, que pode ler um painel com muitos genes em algumas horas; avaliando o custo benefício do NGS se torna maior, considerando que se pode analisar um painel inteiro de genes de forma simultânea diferente de outros sequenciadores (VIJAY, P. *et al.* 2016). Uma vantagem que chama a atenção é que no NGS é que se pode escolher os genes alvos para formação do painel, diferente de alguns sequenciadores que já vêm com a matriz genética pronta. No caso de hemofilias, esta caracterização poderia potencialmente auxiliar a prever a probabilidade de desenvolvimento de inibidores e antecipar a resposta à indução de tolerância imunológica. O NGS proporciona a análise simultânea de vários genes envolvidos em IBCDs, sendo avaliada como uma técnica sensível e eficiente no diagnóstico molecular, podendo auxiliar em especial no diagnóstico pré-natal e no aconselhamento genético (PEZESHKPOOR, B. *et al.* 2013).

#### **4 CONCLUSÃO**

A Hemofilia A é uma doença que, apesar de largamente estudada, ainda envolve muitos mecanismos complexos de serem entendidos, o que atrapalha o diagnóstico preciso dessa coagulopatia. As pesquisas trazem cada vez mais o entendimento a cerca dos agentes responsáveis pela hemofilia A como a baixa produção do Fator VIII, suas características hereditárias e genéticas e suas novas formas de diagnóstico e tratamento. Atualmente um portador dessa doença pode viver normalmente desde que siga um tratamento correto

A doença hemofilia, independentemente de ser amplamente estudada, envolve muitos mecanismos complexos de serem entendido, o que dificulta no exato diagnóstico dessa doença. Os métodos padrão de diagnósticos laboratoriais recentemente utilizados para a detecção e acompanhamento das hemofilias possibilitam resultados restritos devido às dificuldades como quantificação de baixos níveis de anticorpos inibidores e diferenciação da hemofilia com as demais coagulopatias.

As novas técnicas que vem sendo desenvolvidas dentro do diagnóstico tem a função de realizar com maior especificidade funções como: análise dos genes F8 (HA) e F9 (HB), inserções e mutações conhecidas ou novas, quantificação do fator VIII. Esses resultados ao serem relacionados com quadro clínico do paciente e outros exames podem auxiliar posteriormente na melhor forma de tratamento e até mesmo ser utilizado como forma de evitar possíveis agravos na evolução da doença.

## 5 REFERÊNCIAS

AMADOR-MEDINA L. F.; VARGAS-RUIZ A. G. Hemofilia. **Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.** Distrito Federal, México, p. 638-642, 2013.

ALCÂNTARA, A. L. M. Hemofilia: fisiopatologia e tratamentos. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2019. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/handle/prefix/13662> Acesso em:29.fev. 2020.

BASTIDA, J. M. *et al.* Design and application of a 23-gene panel by next-generation sequencing for inherited coagulation bleeding disorders. **J Haemophilia.** 2016. Jul. vol. 22. n°.4.p.590-7.

BRASIL, **Manual de Hemofilia.** Brasília-DF, 2015. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_hemofilia\\_2ed.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_hemofilia_2ed.pdf)>. Acesso em: 28. Fev.2020

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. **Manual de reabilitação na hemofilia.** Elaborado por: Mônica Hermida Cerqueira *et al.* Brasília: 2011.

CHAVES, D.G.; RODRIGUES, C.V. Desenvolvimento de inibidores do fator VIII na hemofilia A. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** p. 384-90, vol. 5, n°31.2009;

COSTA, P. M. **Hemofilias – uma abordagem atualizada.** 2015. 106 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2015.



DUNCAN E, COLLECUTT M, STREET A. **Nijmegen-Bethesda Assay to Measure Factor VIII Inhibitors**. *Methods Mol Biol*. 2013;p. 321-33.

FBH (Federação Brasileira de Hemofilia). **O que é hemofilia?**. 2014. Disponível em: <<http://www.hemofiliabrasil.org.br/>>. Acesso em: 19 jan. 2019.

KOCOT C, *et al*. Biomimetic biosensor to distinguish between inhibitory and non-inhibitory factor VIII antibodies. **Anal Bioanal Chem**. 2015. Jul. vol. 40. n°.19. p.5685-93.

LIANG J, *et al*. Development and validation of an ultra-high sensitive next-generation sequencing assay for molecular diagnosis of clinical oncology. **Int J Oncol**. 2016 Nov. vol.49. n°.5. p.2088-2104.

LYU, C. *et al*. Identification of mutations in the F8 and F9 gene in families with haemophilia using targeted high-throughput sequencing. **J Haemophilia**. 2016 Sep; 22.n° 5.

MANSO, V. M. C. Panorama histórico e distribuição da hemofilia no Brasil. 2011 [30 out. 2011]; Available from: [http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00098\\_01C.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00098_01C.pdf).

MILOS M, COEN HERAK D, ZUPANCIC-SALEK S, ZADRO R. New quantitative aPTT waveform analysis and its application in laboratory management of haemophilia A patients. **J Eukaryot**. p. 898-904, vol. 6, n°20,2014.

MINAYO, M. C. S.; CAVALCANTE, F. G. Suicídio entre pessoas idosas: revisão da literatura. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 750-757, ago. 2010.

MONTE, M. F. L. **Perfil clínico e epidemiológico de pacientes hemofílicos atendidos no centro de hematologia e hemoterapia do Piauí-HEMOPI**. 2016. 68 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

MORAES,M. Biblioteca Dante Moreira Leite. **Tipos de Revisão de Literatura**. São Paulo.2015.Disponível em:<<http://www.ip.usp.br/portal/images/biblioteca/revisao.pdf>>. Acesso em: 28. fev.2020.

NUNES, A. A. *et al.*, **Qualidade de vida de pacientes hemofílicos acompanhados em ambulatório de hematologia**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter, 2009.

PEREIRA, A. **Aspectos sociais da vivência com a hemofilia**. Centro Sócio-Econômico, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2010.

PINHEIRO, Y. T. *et al.* **Hemofilias e Doença de von Willebrand: uma revisão de literatura**. Arch Health Invest. 2017

PINTO, G.M. *et al.* **Hemofilia A**. Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, 2001

REZENDE, S. M. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. **Rev Med Minas Gerais**, Belo Horizonte, p. 534-553, jul. 2010.

RODRIGUES, L.M.L. *et al.* Avaliação comparativa entre os novos métodos e os métodos tradicionais de diagnósticos laboratoriais para as hemofilias: revisão integrativa. **Rev. RBAC**, Belém-PA, p. 111-117, vol.2, nº50, 2018.

ROSSET, C. **Genética, patologia molecular e formação de inibidores anti-FVIII na Hemofilia A**. 2013. 119 f. Dissertação (Pós-Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Biociências. Departamento de Genética. Porto Alegre, mar. 2013.

SANTOS, E. G. *et al.* Deformidades e incapacidades dos hemofílicos. **Rev. Ter. Ocup. Univ. São Paulo**, v. 18, n. 2, p. 86-94, maio/ago., 2007.

SOPHIA, M. Hemofilia – parte II. [S. 1.]: **Portal da Cromoterapia**, 2010. Disponível em: <http://www.artecor.com.br/blog/artigos> acesso em: 29.fev. 2020.

SILVA, T. Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde em pacientes com hemofilias A e B atendidos na fundação HEMOMINAS – Minas Gerais, Brasil

Dissertação (Mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva pelo Programa de Pós -Graduação em Saúde Coletiva do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Epidemiologia BELO HORIZONTE 2015  
CHESP 2019 - Centro dos Hemofílicos do Estado de São Paulo. Disponível em: <https://chesp.org.br/hemofilia/historia-da-hemofilia/>. Acesso em:29.fev. 2020.

SOUSA, E.T.; VELOSO, H.; SILVA, N.A; ARAÚJO, J.S.M. Perfil epidemiológico dos portadores de hemofilia do hemocentro da Paraíba. **Rev. Odontológica do Brasil Central**. v. 22, n. 61, 2013.

STASSEN, J. M; ARNOUT, J.; DECKMYN, H. The hemostatic system. **Curr. Med Chem**, p. 2245-2260, Vol. 11, n° 17, 2004.

VIJAY, P.; MCINTYR.; A.B.; MASON, C. E. Greenfield JP, Li S. Clinical Genomics: Challenges and Opportunities. **J Eukaryot**. 2016; Sep. 26.n° 2.p. 97-113.

PEZESHKPOOR, B. *et al*. Deep intronic 'mutations' cause hemophilia A: application of next generation sequencing in patients without detectable mutationin F8 cDNA. **J Thromb Haemost**. 2013. Sep.vol.11. n°9. P.1679-87.

Roberta Truzzi COLOMBO, Gerson. Hemofilias: Fisiopatologia, Diagnóstico e Tratamento. Faculdade Ingá – Uningá. **Rev. Saúde Pública**. v. 25, N° 3, 2013.

RODRIGUES, N. **Hemofilia: origem, transmissão e terapia génica**. Universidade Nova de Lisboa. 2005. Disponível em: <http://biogilde.files.wordpress.com/2010/11/hemofilia.pdf>. Acesso em: 29. Fev. 2020.

ZAGO, A. M; FALCÃO, R. P; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2013

