

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

A FISIOLÓGIA DA COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA E AS PRINCIPAIS ALTERAÇÕES QUE LEVAM À HEMOFILIA

por

Karen Macedo

Orientadora: Mônica Mendes Caminha Murito

Co-orientador: Valmir Laurentino Silva

Dezembro de 2005

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio
Projeto Ciência e Cidadania

A FISIOLOGIA DA COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA E AS PRINCIPAIS ALTERAÇÕES QUE LEVAM À HEMOFILIA

por

Karen Macedo

Monografia apresentada como pré-requisito
à formação do Curso Técnico em
Laboratório em Bodiagnóstico em Saúde
concomitante ao Ensino Médio.

Dezembro de 2005

*Dedico esta monografia aos meus irmãos Alice e Guilherme,
por serem importantes razões para a minha permanência perseverante
em minha longa jornada terrena.*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus, que permitiu o meu egresso nesta Instituição de Saúde e abriu as portas para as escolhas que fiz até o presente momento, sempre me dando forças para persistir em minha jornada.

Em segundo lugar, agradeço a todos os meus familiares pelo apoio que sempre me foi confiado, em especial meus pais, Mônica e Lucilo, meus padrastos, Carminha e Wilson, minhas avós Wilma e Heloísa, meu avô Caetano e meus irmãos Alice e Guilherme, que sempre estiveram presentes em minha vida, acompanhando meu processo de formação e compartilhando comigo todos os momentos em que mais tive vontade de abandonar tudo ou de realizar atitudes ousadas.

Agradeço aos meus orientadores Mônica e Valmir pela presença e ajuda na realização deste trabalho.

Agradeço aos meus amigos da EPSJV que fizeram com que esses três anos fossem os melhores da minha vida, os quais eu nunca esquecerei. Agradeço às minhas amigas-irmãs Viviane, Julia, Fernanda e Mariana, às minhas “filhas” Liduína e Vanessa, aos ex-alunos Camila e Luan, que mesmo distantes, continuam participando de minha existência, e à minha melhor amiga Amaya, sempre presente nos momentos em que estive mais vulnerável, tendo paciência e compreensão, e nos momentos em que fui mais feliz.

Agradeço ao meu namorado Vinicius pelo apoio, sempre acreditando que eu poderia superar mais essa etapa da minha vida, e pela paciência em esperar o término deste longo trabalho.

Finalmente, agradeço a todos que por ventura passaram em minha vida, pois sempre serão lembrados. Aos citados, meu carinho e amor todo especial.

*“Eu, solenemente, juro consagrar minha vida a serviço da Humanidade.
Darei como reconhecimento a meus mestres, meu respeito e minha gratidão.
Praticarei a minha profissão com consciência e dignidade.
A saúde dos meus pacientes será a minha primeira preocupação.
Respeitarei os segredos a mim confiados.
Manterei, a todo custo, no máximo possível, a honra e a tradição da profissão médica.
Meus colegas serão meus irmãos.
Não permitirei que concepções religiosas, nacionais, raciais, partidárias ou sociais
intervenham entre meu dever e meus pacientes.
Manterei o mais alto respeito pela vida humana, desde sua concepção.
Mesmo sob ameaça, não usarei meu conhecimento médico em princípios contrários às leis
da natureza.
Faço estas promessas, solene e livremente, pela minha própria honra”.*

Hipócrates

Resumo

Esta monografia visa estudar a hemofilia a partir da avaliação fisiológica do sistema hemostático, regulador da coagulação sanguínea, buscando esclarecer as alterações nos mecanismos que resultam na doença, bem como a diferenciação entre os tipos e gravidades das hemofilias, os principais sintomas que acometem os pacientes e as diversas formas de tratamento, disponibilizadas através do diagnóstico clínico e laboratorial.

ÍNDICE

Introdução	8
Capítulo 1 – Origem	10
1.1 – Histórico da Hemostasia	10
1.2 - Formação das Células Sangüíneas e Fatores Plasmáticos	15
Capítulo 2 – Hemostasia	26
2.1 – Mecanismo Hemostático	26
2.1.1 – Fase 1 – Constrição Vascular	28
2.1.2 – Fase 2 – Agregação Plaquetária	30
2.1.3 – Fase 3 – Formação do Coágulo e Fibrinólise	33
2.2 – Alterações em gestantes e neonatos	38
Capítulo 3 – Hemofilia	41
3.1 – Hemofilia “Real”	44
3.2 – Genética	45
3.3 – Classificação e Sintomas	48
Capítulo 4 – Diagnóstico e Tratamento da Hemofilia	54
4.1 – Diagnóstico Clínico e Exame Físico	54
4.2 – Diagnóstico Laboratorial	55
4.2.1 – Métodos de Detecção de Mulheres Portadoras	55
4.2.2 – Exames Laboratoriais	57
4.3 – Tratamento	65
4.3.1 – Conduta Geral	65
4.3.2 – Cuidados imediatos	67

4.3.3 – Terapia de Reposição	69
4.3.4 – Cuidados Domiciliares	72
4.3.5 – Situação atual e perspectivas futuras	73
Considerações Finais	75
Referências Bibliográficas	77

INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade são relatados casos de hemofilia, mas somente no século XIX esta doença recebeu a devida atenção de médicos e pesquisadores. A primeira descrição foi dada em 1803, quando foi relatado sangramento nas articulações. Nesta época percebeu-se que a doença era ligada ao sexo, sendo transmitida por mulheres aparentemente normais, mas se manifestando somente em indivíduos do sexo masculino. O avanço nas pesquisas permitiu a observação de que o tempo de coagulação nesta doença era acima do normal e que, provavelmente, o erro acontecia durante a formação de protrombina. Alguns anos depois dessas descobertas percebeu-se que a protrombina era normal, mas o tempo de sua conversão em trombina era mais lento que o normal.

Em meados do século XX a hemofilia foi considerada uma doença congênita recessiva associada ao cromossomo X. Os indivíduos portadores desta doença possuíam um gene característico defeituoso em um dos braços do cromossomo citado. Tal gene é responsável pela formação do fator de coagulação VIII (fator anti-hemofílico, responsável pela Hemofilia tipo A, caso ausente) e IX (fator de Christmas, responsável pela Hemofilia do tipo B, caso esteja ausente). Caso este gene seja defeituoso, haverá implicações na formação destes fatores, impedindo assim que o tempo de coagulação seja o mesmo que em um indivíduo normal.

Esta enfermidade atinge preponderantemente indivíduos do sexo masculino. Há uma explicação genética para tal: a mulher possui dois cromossomos X; caso um deles venha a possuir o gene defeituoso, o outro cromossomo pode ter o gene funcionando em sua normalidade, suprimindo assim a necessidade do fator de coagulação ausente. Isso ocorre devido à hipótese de inativação dos cromossomos. Por isso, a mulher é considerada portadora do gene da hemofilia. Contudo, os homens só possuem um cromossomo X; basta que o gene nele seja defeituoso para determinar a hemofilia, uma vez que o cromossomo Y não possui a informação genética necessária para gerar o fator ausente. Em casos muito raros são encontradas mulheres hemofílicas, variando da ordem de uma em cem milhões, já que a probabilidade de um homem ser hemofílico varia de uma em dez mil homens.

A gravidade da doença pode ser classificada de acordo com a quantidade de fator de coagulação presente no sangue. A hemofilia é considerada leve quando há cerca de 5 a 25 % de atividade do fator de coagulação no sangue. Há pouco sangramento, usualmente após alguma cirurgia ou grande trauma. Quando há entre 1 e 5 % de atividade do fator de

coagulação no sangue, dá-se o nome de hemofilia moderada e o sangramento pode ocorrer a partir de pequenos traumas e com maior intensidade. Finalmente, na hemofilia grave há ocorrência de até 1 % de atividade do fator de coagulação, onde o sangramento pode ocorrer após pequenos traumas ou espontaneamente, principalmente na pele, nos músculos e mucosas. Cada caso exige uma forma de tratamento específica e cuidados que não devem ser desconsiderados, pois as restrições diminuem de acordo com a maior quantidade de fator de coagulação presente no sangue. Essas restrições estão sendo cada vez mais superadas pelos avanços tecnológicos, que buscam novas técnicas de tratamento a fim de melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

O diagnóstico da hemofilia consiste na realização de um histórico familiar para buscar os possíveis ascendentes portadores da hemofilia¹, uma vez que é uma doença autossômica recessiva associada ao sexo e transmitida através da hereditariedade; o exame físico, visando avaliar alguns sintomas e características do paciente, correlacionando com seu histórico familiar; a união desses resulta no diagnóstico clínico. Após a observação de tais aspectos, faz-se necessária a confirmação do diagnóstico, a partir da realização de testes laboratoriais de triagem da coagulação e, caso positivo, exames imunológicos ou utilizando-se de biologia molecular para dosar o fator ausente e localizar a mutação genética, respectivamente.

Além dos dois tipos principais de hemofilia, há ainda uma outra doença que interfere no tempo de coagulação, denominada Doença de Von Willebrand. Esta ocorre também devido a um distúrbio genético que causa ausência ou mau funcionamento do fator de Von Willebrand. Esta doença tem a mesma incidência em homens e mulheres, e somente uma em cada dez mil pessoas necessita de tratamento. Entretanto, em vários pacientes portadores ocorre uma queda dos níveis plasmáticos de fator VIII da coagulação, necessitando muitas vezes de reposição.

¹ Deve-se ter em mente que aproximadamente 30% dos casos de hemofilia são gerados a partir de mutações espontâneas, nos quais não há histórico familiar da doença.

CAPÍTULO I

ORIGEM

1.1- Histórico da Hemostasia

As maiores descobertas no campo da coagulação sangüínea datam do século XX; entretanto, desde o século XVII são realizadas pesquisas para desvendar os mecanismos mais intrínsecos desta parte bastante complexa da fisiologia do sangue. Sendo assim, um importante médico italiano, Marcello Malpighi, iniciou este processo ao descobrir, em 1666, “que a substância sólida de um coágulo sangüíneo após lavagem completa consistia numa rede de filamentos brancos e não em sangue total” (Hilgartner & McMillan, 1982, p.705). Esta descoberta foi comprovada em 1707 e 1770 por Ruysch e Hewson, respectivamente, ao afirmarem que esse componente sólido derivava do plasma. Em 1795, este componente começa a ser chamado de fibrina por Chaptal e, em 1859, Denis conclui que a fibrina derivava de um precursor protéico solúvel plasmático cujo nome seria fibrinogênio. Por sua vez, Buchanan percebeu, em 1845, que o fibrinogênio converte-se em fibrina a partir da utilização de uma enzima denominada trombina. Schmidt, além de confirmar a ação da trombina, sugeriu que esta provinha de um precursor inerte do plasma posteriormente denominado protrombina, mas que necessitava a adição de outras substâncias plasmáticas para sua conversão. Finalmente, em 1890, Arthur e Pages descobrem ser o cálcio esta substância, e lançam as bases para as posteriores descobertas que definiriam o rumo da coagulação sangüínea. Ao mesmo tempo, um médico francês, Hayem, relata, em 1878, que a lesão ocorrida em um vaso sangüíneo implicava em uma agregação das plaquetas entre si e com sentido voltado para a região lesada, mas este elemento figurado do sangue somente obteve valor científico por volta da década de 1960 (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.705).

Morawitz, em 1905, reuniu todos esses dados e elaborou uma teoria geral da coagulação, a qual manteve sua base inalterada até os dias atuais, sofrendo apenas aperfeiçoamentos, o que demonstra sua validade em tempos onde as pesquisas ainda eram um pouco “rudimentares”. Nesta teoria, ele afirma que a junção da protrombina, do cálcio iônico e de substâncias teciduais que auxiliam a transformação que irá ocorrer, cujo nome dado foi tromboplastina, resultaria na formação de trombina, ao passo que a união da

trombina com o fibrinogênio formaria uma malha de fibrina. Durante esse período, estudiosos sugeriram que existiam no plasma substâncias que poderiam estimular a formação de uma enzima capaz de dissolver os coágulos de fibrina, assim como substâncias específicas para inibir a ação da trombina e fibrinólise (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.705).

A partir da década de 1930 foram feitos grandes progressos, sendo o primeiro iniciado por Quick, ao realizar um simples teste laboratorial que consistia “na determinação do tempo de coagulação do plasma descalcificado por citrato ou oxalato de sódio após recalcificação e adição de uma suspensão salina de cérebro de coelho seco” (McMillan, 1982, p.628), conhecido como Tempo de Protrombina (PT). Acreditavam que o PT indicaria o conteúdo de protrombina encontrado no plasma através da presença de boas concentrações de cálcio, tromboplastina e fibrinogênio; logo, caso os resultados apresentassem-se anormais, haveria uma redução da atividade normal da protrombina. Um ano depois, Warner introduziu uma prova mais específica para a protrombina, possibilitando a identificação da hipoprotrombinemia na doença hemorrágica do recém nascido e na icterícia obstrutiva do homem, além da descoberta da vitamina K por Dan, em 1939, e a comprovação de que esta tem ligação direta com as doenças anteriormente citadas (McMillan, *op. cit.*, p.628).

Os avanços na explicação da hemostasia cresciam, mas algumas dúvidas não haviam sido respondidas, como era o caso da hemofilia. O PT de pacientes hemofílicos era normal, contradizendo a característica principal desta enfermidade, simbolizada por um prolongamento no tempo de coagulação. A partir da observação de Brinkhous de que “o conteúdo de protrombina específica do plasma hemofílico é normal, enquanto a conversão da protrombina em trombina é retardada” (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p. 706), foi constatado que o prolongamento era resultado da ausência de um fator anti-hemofílico que influenciava na formação de trombina. Em 1947, Pavlovsky gerou a hipótese de haver mais de um fator anti-hemofílico ao transfundir sangue de um paciente hemofílico para outro portador da mesma doença e perceber que o tempo de coagulação fora corrigido (McMillan, *op. cit.*, p.629).

A grande contribuição para a inicial teoria da coagulação de Morawitz seria feita em 1947, por Owren, ao perceber que uma mulher de 29 anos portadora de um distúrbio hemorrágico congênito possuía um PT prolongado, mas que não era resultado de alguma deficiência na protrombina. Dessa forma, ele demonstrou que este distúrbio era causado pela deficiência ou ausência de algum fator que promove a conversão de protrombina em

trombina (McMillan, *op. cit.*, p.629). Como os quatro primeiros fatores da coagulação já haviam sido nomeados (fibrinogênio, protrombina, tromboplastina tecidual e o cálcio iônico, nesta ordem), o novo fator recebeu o nome de fator V, e sua forma ativada de fator VI, nome pouco usado atualmente. Esse enorme passo contribuiu para que, até a década de 1960, outros seis fatores da coagulação fossem identificados e nomeados: fatores VII, VIII, IX, X, XI e XII. O fator XIII foi descoberto por Laki e Lorand e foi denominado fator estabilizador da fibrina, devido à sua ação sobre a fibrina através de ligações peptídicas (Hilgatner & McMillan, *op. cit.*, p. 706).

Todas essas descobertas definiram a participação desses fatores na conversão da protrombina em trombina, mas sua ligação com a hemofilia só teve início com as pesquisas de Argeler, Schulman e Smith e Biggs, em 1952 (McMillan, *op. cit.*, p.630). Eles constataram que havia uma única doença, com as mesmas características, mas ocasionada por diferentes fatores da coagulação - a forma mais comum da hemofilia era causada pela atividade deficiente do fator plasmático VIII, sendo conhecida como hemofilia clássica, e a Doença de Christmas é uma forma mais atípica da hemofilia, causada pela ação deficiente do fator IX -, o que implicava em resultados laboratoriais diferentes, possibilitando a validade de uma informação fornecida alguns anos antes por Pavlovsky. Sua observação foi comprovada quando foram publicadas informações de que o plasma de pacientes que possuíam diferentes deficiências era corrigido, enquanto as pessoas que possuíam o mesmo distúrbio não manifestavam alteração, ou seja, “o paciente hemofílico de Pavlovsky, cujo tempo de coagulação foi transitoriamente corrigido após transfusão com sangue de outro hemofílico, tinha, na verdade, Doença de Christmas, visto que o doador possuía hemofilia clássica” (McMillan, *op. cit.*, p. 630).

Além disso, o estudo sobre a hemofilia garantiu o entendimento da relação que havia entre essa coagulopatia e o problema encontrado durante a conversão da protrombina em trombina. Em 1953, Biggs e Douglas publicam um artigo abordando um novo teste realizado para diferenciação de hemofilias, o Teste de Geração de Tromboplastina (TGT). Com ele, “os autores demonstraram que uma mistura deficiente em protrombina e contendo plaquetas, plasma adsorvido com sulfato de bário, soro envelhecido e cálcio produzia um princípio conversor da protrombina na ausência de tromboplastina tecidual” (McMillan, *op. cit.*, p. 630). Esse princípio foi denominado tromboplastina plasmática, e gerou resultados importantes, como a percepção de que os pacientes hemofílicos não conseguem produzir tromboplastina plasmática, que o fator deficiente na Hemofilia Clássica encontra-se adsorvido na fração do plasma e que o fator deficiente da Doença de

Christmas geralmente é encontrado na fração do soro. Contudo, deve-se salientar que parte da protrombina e dos fatores VII, IX e X não estão presentes após a adsorção do plasma com sulfato de bário, ao mesmo tempo em que não há fibrinogênio, protrombina e fatores V e VIII em soro de sangue coagulado (McMillan, *op. cit.*, p. 630).

Um método mais aperfeiçoado foi inserido por Langdell, em 1953, no qual somente uma parte do tecido cerebral era utilizada, em detrimento da técnica do PT. Assim, era acrescentada uma tromboplastina parcial na forma de fração lipídica da tromboplastina completa, demonstrando que a utilização de somente parte da tromboplastina era capaz de detectar a coagulação prolongada no plasma hemofílico, o que não ocorria quando se utilizava a tromboplastina completa. Essa inovação possibilitou a escolha do Tempo de Tromboplastina Parcial (PTT) como prova de triagem definitiva da coagulação (McMillan, *op. cit.*, p. 630).

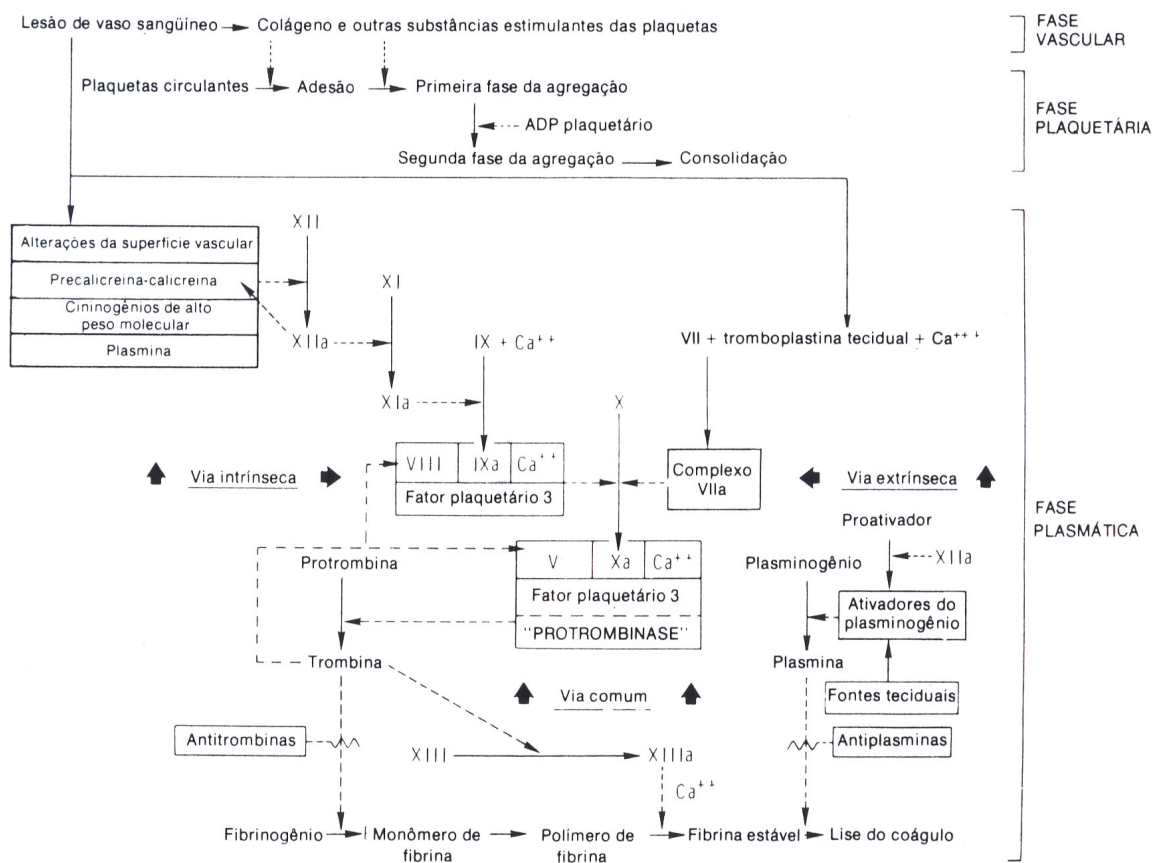
Na década de 1960 surgiram hipóteses para a conversão da protrombina em trombina, e duas idéias foram citadas. A primeira constituía-se na ativação a partir de uma via extrínseca, manifestando seu resultado através do PT, e de uma via intrínseca, com resultado fornecido pelo PTT e TGT, a partir da interação de fatores de coagulação com fosfolipídios plaquetários. Mas foi somente no início da década de 1970 que se chegou a um consenso para a conversão da protrombina em trombina:

“um princípio conversor da protrombina ou protrombinase é produzido no plasma através da interação do fator X ativado, cálcio, fator V e fosfolipídios plaquetários; o fator X é ativado por uma via extrínseca, dependente da interação da tromboplastina tecidual completa (fator III) com o fator VII e cálcio, e por uma via intrínseca, dependente das interações de certos fatores da coagulação, isto é, fatores XII, XI, IX e VIII, cálcio e tromboplastina parcial derivada dos fosfolipídios plaquetários (fator plaquetário 3)” (McMillan, *op. cit.*, p. 630-631).

Além destas importantes descobertas, Hellem percebeu, em 1960, após a realização de algumas experiências, que aproximadamente 46% das plaquetas eram retidas por uma coluna de pérolas, caso estas fossem filtradas ainda sendo parte do sangue total citratado, e se essa mesma coluna filtrasse um plasma que não contivesse eritrócitos, somente 4% das plaquetas eram retidas. Sendo assim, foi designada a participação dos eritrócitos na coagulação, no sentido de fornecer um fator responsável pela maior adesão e agregação plaquetária, posteriormente denominado ADP. A partir desse momento foram feitos vários estudos utilizando testes com a coluna de pérolas, ou através da observação de pacientes

portadores de um distúrbio funcional das plaquetas, impedindo sua plena agregação devido à deficiente liberação de ADP, o que resultou na comprovação do papel do ADP sobre a agregação das plaquetas, sobretudo o que provinha das plaquetas, e não o anteriormente descrito originado das hemácias (McMillan, *op. cit.*, p. 648).

Em 1978, já havia sido determinado o conceito atual de hemostasia, onde poucos foram os dados acrescentados, como, por exemplo, a descoberta de outros fatores que não receberam a numeração romana, denominados precalicreína, cininogênio de alto peso molecular, proteína C e proteína S (Hilgater & McMillan, *op. cit.*, p. 706). Não pode ser ignorado, porém, o avanço nos diagnósticos e testes laboratoriais, que ainda buscam compreensões para a relação entre alguns dos fatores da coagulação. Na figura abaixo há uma síntese de todos os elementos até então averiguados. As linhas sólidas representam transformações e as linhas tracejadas representam ações.



1.2- Formação das células sanguíneas e fatores plasmáticos

Há muitas décadas, cientistas de todo o mundo analisam, pela metodologia da pesquisa, a origem das células que compõem um dos fluidos essenciais para o bom funcionamento do corpo humano: o sangue, composto também por uma parte líquida denominada plasma sanguíneo. Entretanto, é bastante recente a descoberta de uma célula progenitora de todas as outras células do sangue, encontrada na medula óssea vermelha do ser humano.

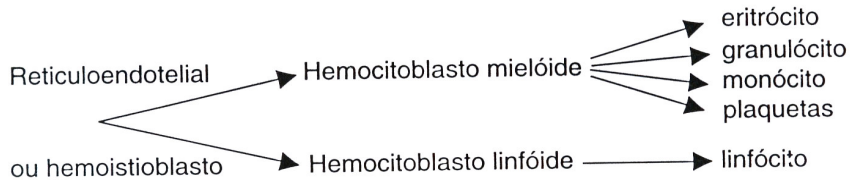
A porção celular abrange por volta de 45% do volume sanguíneo, enquanto os outros 55% são representados pelo plasma; deste último, somente 8% de seu conteúdo é formado por componentes orgânicos (onde as proteínas constituem as substâncias mais importantes, tendo sua origem, em grande parte, nos hepatócitos), inorgânicos e lipídeos, sendo a água o elemento restante desta mistura. As proteínas mais importantes encontradas no plasma sanguíneo são a albumina, os fatores da coagulação, as imunoglobulinas, hormônios, eletrólitos (cálcio, potássio, sódio), resíduos, como uréia, ácido láctico, e dióxido de carbono, e componentes do sistema complemento. Por sua vez, a parte celular é formada, em sua maioria, por eritrócitos, seguidos, em uma quantidade bastante pequena, pelos leucócitos e plaquetas circulantes (Lorenzi *et al.*, 2003, p. 1).

A hematopoese é um sistema altamente organizado responsável pela produção das células sanguíneas, a qual pode diferenciar-se em intra-uterina – mesoblástica, visceral e medular -, e extra-uterina. Na primeira observa-se que até a oitava semana de gestação, aproximadamente, ocorre a hematopoese heterotípica, onde são originados megaloblastos no mesênquima primitivo, que se desenvolvem no saco vitelino (Pearson, 1982, p. 2). Após diferenciação e maturação, que ocorre no próprio sangue, este progenitor transformar-se-á em megaloblasto basófilo, policromatófilo e ortocromático e, por fim, em megalócito, considerado o eritrócito embrionário². Após o segundo mês de gravidez inicia-se a segunda fase, onde outros elementos do sangue terão origem inicialmente no fígado, que assume função hematopoética até o sétimo mês de vida do feto (Lima *et al.*, 2001, p. 21.1-21.2).

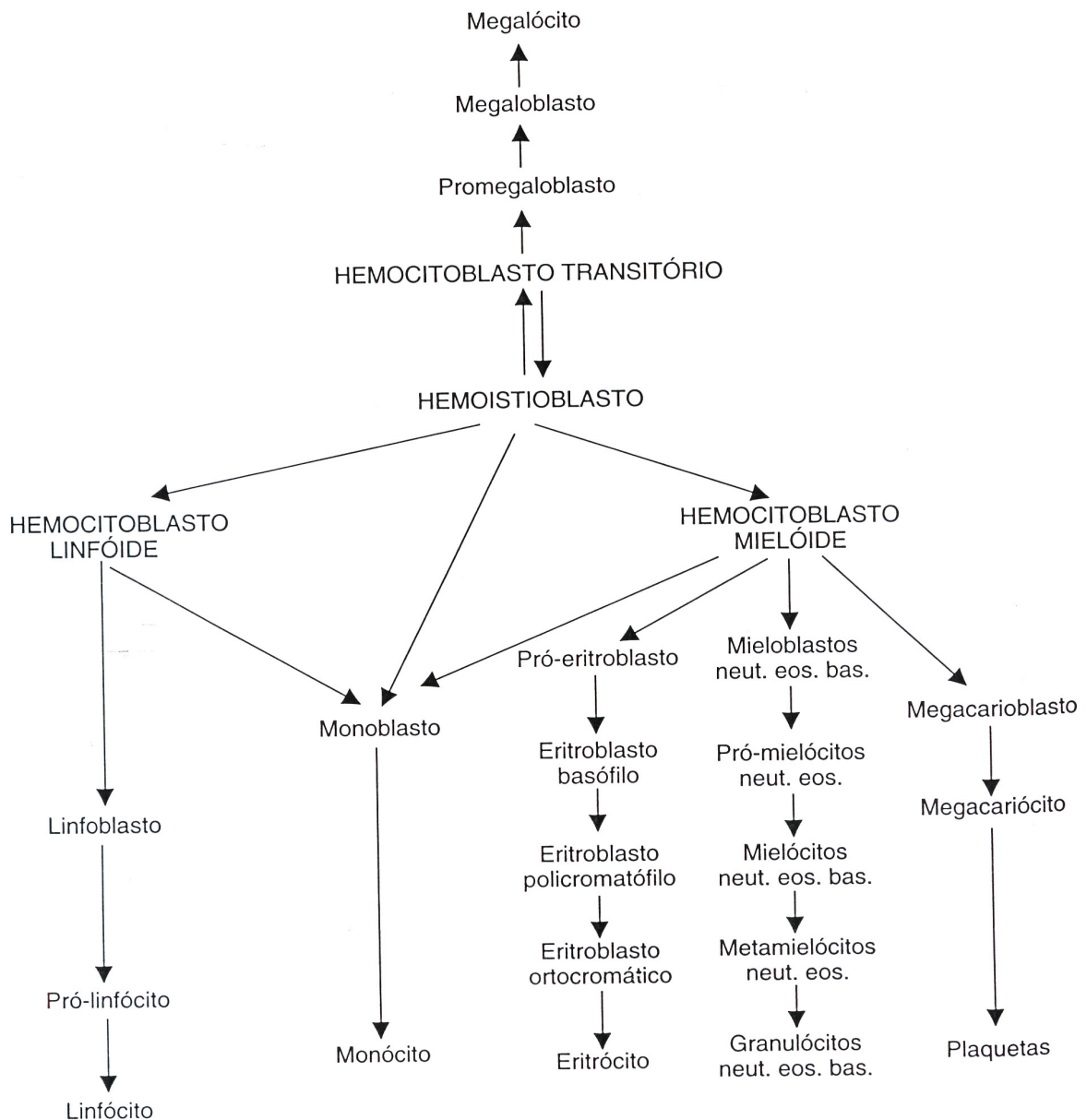
Este órgão forma os hemocitoblastos, que sofrerão diferenciação e originarão os elementos das séries eritroblástica, granulocítica e megarocítica. Simultaneamente, após o quarto mês, o baço, a medula óssea vermelha e os gânglios linfóides iniciam sua produção hematopoética, nesta ordem. A definição funcional ocorre por volta dos últimos três meses

² Durante esta fase, somente a linhagem eritropoética é formada.

de gravidez, nos quais a medula óssea vermelha torna-se responsável pela origem do sistema mielóide; o fígado não mais terá função hematopoética, o baço assume, definitivamente, função linfocitária – anteriormente sua produção era basicamente mielóide -, e o sistema reticuloendotelial origina os monócitos (Lorenzi *et al.*, *op cit.*, p. 7). Abaixo verifica-se esse modelo de hematopese.



Segue abaixo a hematogênese, segundo Ferrata



O nascimento apenas aperfeiçoa este sistema: a medula óssea vermelha permanece como órgão principal da hematopoese, mas aos poucos vai diminuindo em quantidade devida à sua transformação em medula óssea amarela, composta por tecido adiposo, que ocorre do centro da diáfise dos ossos longos em direção às epífises. No adulto, a medula óssea vermelha limita-se aos ossos do crânio, aos ossos do tórax (clavícula, esterno e costela), aos ossos chatos da pelve, às vértebras e à extremidade superior do úmero e do fêmur. Os monócitos podem ser produzidos pelo sistema reticuloendotelial, mas geralmente essa ação ocorre na própria medula óssea. A contribuição do baço permanece no sentido de ser um órgão linfóide (Lima *et al.*, *op. cit.*, p. 21.3).

Segundo afirma Lorenzi *et al.*:

“A hemopoese se processa em condições normais, por intermédio de um mecanismo regulador, no qual deve existir o equilíbrio entre a ação dos fatores que estimulam a proliferação celular e daqueles que a inibem. [...] Os fatores de crescimento irão atuar sobre as células indiferenciadas que se distribuem na medula óssea, bem próximas às células que os produzem. Seu ponto de ação é a membrana celular, uma vez que as células hematopoéticas têm receptores que reconhecem essas várias substâncias. À medida que as células se diferenciam, perdem a capacidade de resposta ao estímulo que causou sua proliferação e conseqüente aumento em número; outros fatores passam então a atuar de maneira preferencial sobre elas, no sentido de permitir a completa diferenciação celular para cada uma das linhagens do sangue. Quando essa diferenciação está completa, as células maduras atravessam as paredes delgadas dos sinusóides medulares e entram na circulação.” (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.13-14).

Para tal, é necessária a presença de um microambiente em que estejam inseridos todos os fatores, tais como células, proteínas, glicoproteínas e proteoglicanas, os quais são produzidos pelas células estromais, encontradas na matriz extracelular, que permitirão o crescimento e a diferenciação das células sangüíneas; este é denominado estroma, e está intimamente ligado à secreção de substâncias que irão interagir com as células-tronco, possibilitando sua posterior divisão (Rego, 2001, p.17).

As células encontradas nos sinusóides medulares são de natureza adiposa, reticular e endotelial, na qual estas últimas interagem com as células hematopoéticas a partir de moléculas de adesão específicas encontradas nas membranas das células endoteliais, permitindo sua união com o meio externo.

Ao mesmo tempo, as células estromais secretam glicoproteínas denominadas fatores de crescimento, a fim de participar ativamente na proliferação e diferenciação das células hematopoéticas. Sua classificação é determinada com relação ao tipo de receptor de membrana celular: podem abranger as substâncias denominadas citocinas, que influenciam as células linfocitárias, e as interleucinas, cuja ação é voltada para as células mielóides. Ao mesmo tempo, os fatores que inibem a hematopoese são produzidos por vários tipos de células presentes na medula óssea, como linfócitos, células endoteliais e células granulocíticas maduras, e têm por finalidade impedir a produção de grande quantidade de células sanguíneas.

As células denominadas hematopoéticas dividem-se em três grupos, sendo elas as células-tronco, células precursoras e células diferenciadas. A principal característica do primeiro grupo é a capacidade de se dividir assimetricamente, de forma a gerar uma nova célula-tronco, onde permanece sua característica de pluripotencialidade, fenômeno conhecido como auto-regeneração, e uma célula precursora que irá originar uma linhagem específica; por sua vez, as células precursoras perdem a capacidade de se auto-regenerar e, inicialmente, formam células capazes de originar diferentes linhagens, mas sua especificidade aumenta proporcionalmente ao aumento da divisão celular, restringindo-se finalmente em células diferenciadas; estas últimas possuem funções bastante especializadas e são resultados de modificações permanentes no citoplasma e no núcleo das células precursoras (Rego, *op. cit.*, p. 18-20).

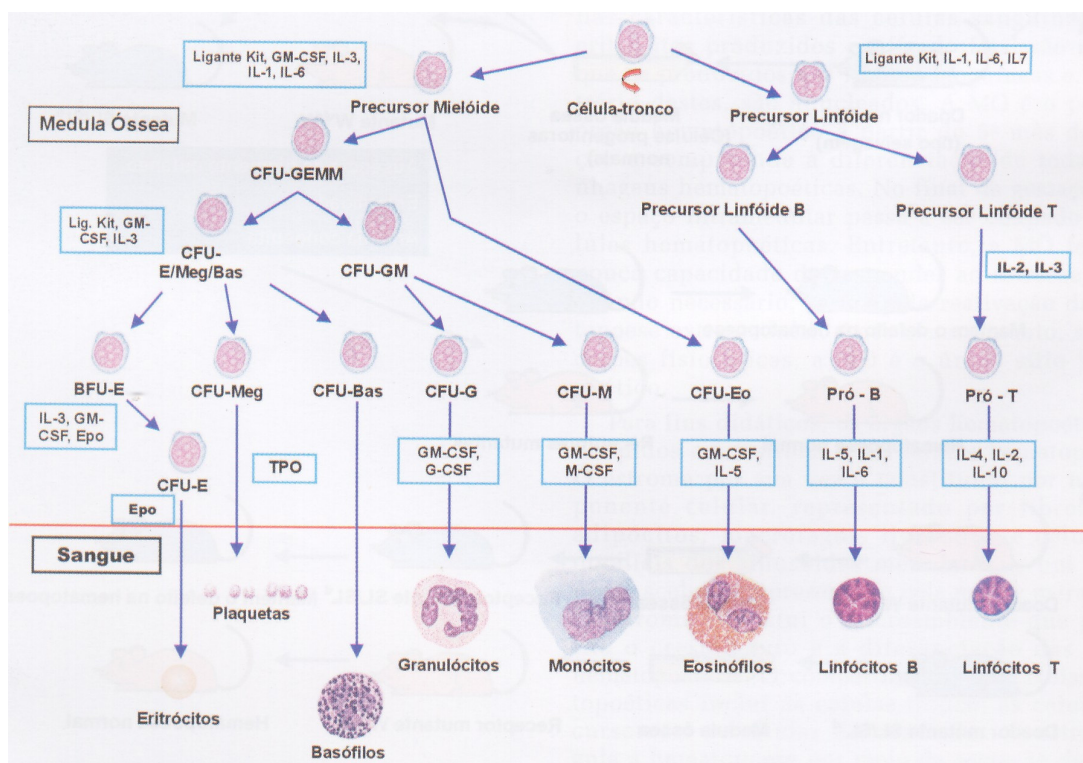
Guyton (1992) revela a presença de células precursoras na medula óssea:

“Na medula óssea, existem células denominadas células-tronco hematopoéticas pluripotentes, a partir das quais derivam todas as células do sangue circulante. À medida que essas células se reproduzem durante toda a vida do indivíduo, uma parte permanece exatamente como a célula pluripotente original, sendo retida na medula óssea para manter o suprimento dessas células, embora seu número diminua com a idade” (Guyton, *op. cit.*, p.313).

Após a divisão da célula pluripotente, a partir de divisão celular mitótica, há formação de duas células indiferenciadas, conhecidas como Unidades Formadoras de Colônia (CFU), que irão originar a linhagem mielóide e a linhagem linfóide sanguíneas. Esta é a fase em que as células-filhas, provenientes das pluripotentes, são denominadas células comprometidas, por serem indiferenciadas, porém já estarem destinadas a uma

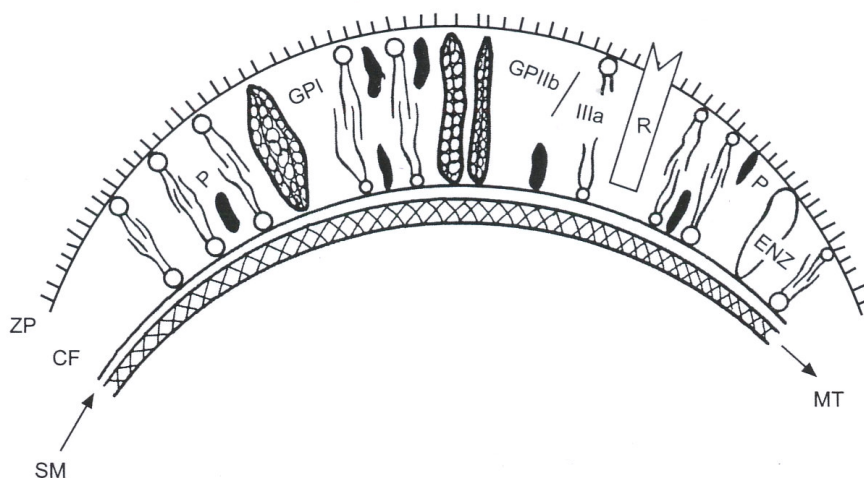
determinada linhagem celular. As divisões sucedem-se de forma que o grau de diferenciação entre elas as torne unipotentes, sendo, a partir de então, capazes de originar uma determinada série sangüínea (Guyton, *op. cit.*, p.313).

Para atender a formação da primeira linhagem, a CFU dividir-se-á em Unidade Formadora de Colônia Eritroblástica, precursora da série eritrocitária; Unidade Formadora de Colônia Granulocítica e Monocítica, precursora dos neutrófilos e monócitos; Unidade Formadora de Colônia Megacariocitária, precursora dos megacariócitos; Unidade Formadora de Colônia de Eosinófilos e Unidade Formadora de Colônia de Basófilos. Para a série linfóide, o precursor diferencia-se em pré-linfócitos B e T, cada qual com sua função característica, que sofrerão maturação em órgãos específicos. O resultado de todas essas divisões pode ser verificado na figura abaixo, onde estão especificadas cada célula originada pelas linhagens determinadas. Elas são encontradas no sangue periférico na forma de eritrócitos, granulócitos – neutrófilos ou segmentados, eosinófilos e basófilos -, linfócitos, monócitos e plaquetas. Alterações na produção de células sangüíneas pela medula óssea podem implicar na redução destas células no sangue periférico, ou ainda a entrada de células ainda imaturas para o mesmo, como, por exemplo, os eritroblastos, precursores das hemácias, ou os mielócitos ou metamielócitos, precursores dos segmentados. Ainda podem estar presentes em pequena quantidade no sangue periférico os bastonetes, células maduras precursoras dos segmentados, ou reticulócitos, que posteriormente irão originar os eritrócitos (Guyton, *op. cit.*, p.313).



As plaquetas correspondem a uma exceção à regra que determina a origem de uma célula madura a partir de sua precursora, uma vez que são formadas no interior do citoplasma do megacariócito, o qual pode formar de duas a três mil plaquetas, e não possuem nenhum material nuclear (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.39-41). Estas células, juntamente com proteínas específicas denominadas fatores da coagulação serão responsáveis pelo controle hemostático do organismo, o qual será definido no próximo capítulo.

Estas células incompletas possuem morfologia característica, sendo composta por três zonas distintas. A mais externa é a Zona Periférica, onde se encontram os antígenos, enzimas, lipídios, e glicoproteínas que possibilitarão a interação da plaqueta com as células vizinhas e/ou com a parede endotelial. Abaixo desta há uma membrana plaquetária composta basicamente por glicoproteínas, as quais muitas vezes farão ligações com alguns fatores da coagulação – fibrinogênio, trombina, fator V, fator X e fator VIII-antígeno -, funcionando como receptores de membrana e mediadores no transporte de substâncias através da mesma, atuando tanto na fase de adesão quanto na agregação plaquetárias (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.150). Para ilustrar esta Zona, segue a figura abaixo.

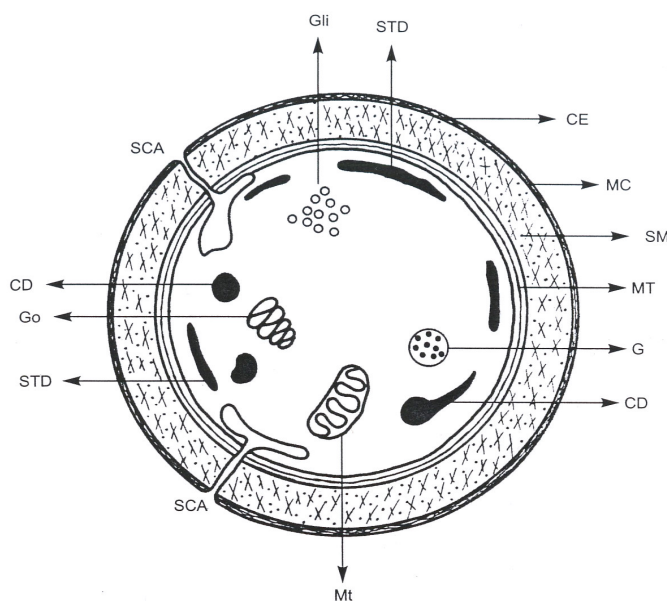


Membrana plaquetária – esquema da anatomia. (ZP = zona periférica; CF = camada dupla de fosfolípidos; P = proteína; GP = glicoproteínas; ENZ = enzima; SM = submembrana; MT = microtúbulos).

A segunda zona recebe o nome de Sol-Gel e contém proteínas denominadas microtúbulos que irão ligar-se à microfilamentos, formando uma espécie de esqueleto plaquetário, capaz de guiar as células para retrain um coágulo formado ou eliminar produtos que foram secretados. Esses microtúbulos possuem uma proteína, denominada tubulina, responsável pela contração ocorrida quando na junção com o coágulo. Em

repouso não ocorre contração porque a tubulina encontra-se na forma polimerizada, mas esta sofre despolimerização e repolimerização ao sofrer ativação. Os microfilamentos possuem actina e miosina, proteínas muito presentes nos músculos, também responsáveis pela contração das plaquetas (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.151).

A terceira e última é a Zona de Organelas, onde são encontradas várias estruturas, como mitocôncrias, que atuam na síntese de ATP, principalmente quando a plaqueta é estimulada, pois há aumento do consumo de oxigênio pela mesma, o que gera a oxigenação do ácido aracdônico, de papel importante na coagulação sangüínea; grânulos, contendo substâncias como fatores de crescimento, fatores da coagulação e proteínas de adesão; partículas de glicogênio, funcionando como reserva energética da plaqueta; corpos densos, os quais possuem grande quantidade de cálcio e sua diminuição altera a agregação plaquetária; lisossomas, onde se encontram importantes enzimas, como a glucosaminidase, galactosidase e a fosfatase ácida; Aparelho de Golgi; e o sistema de membranas internas, contendo o sistema tubular denso, funcionando como o retículo endoplasmático do megacariócito, e o sistema de canalículos abertos, que interagem após ativação plaquetária. O primeiro sintetiza prostalglandina e tromboxane, retendo e eliminado íons de cálcio que estarão relacionados com o processo de contração das plaquetas, e o segundo compreende o espaço onde o endoplasma dessas células comunica-se com o meio externo, pelo qual são transmitidas substâncias secretadas para o meio externo e deste provenha os estímulos para ativação celular (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.152-154).



Corte esquemático de uma plaqueta. (CE = camada externa; MC = membrana celular; SM = submembrana; MT = microtúbulos; G = grânulos; CD = corpos densos; Mt = mitocôndria; Go = Golgi; SCA = sistema de canalículos abertos; STD = sistema tubular denso; Gli = glicogênio).

Além destas zonas, existem importantes substâncias, tais como lipídeos, carboidratos, glicoproteínas, proteínas, fatores de crescimento e antígenos plaquetários, que possuem papel fundamental na hemostasia e serão posteriormente discriminadas, assim como diversas substâncias que atuam em sua ativação como, por exemplo, o cálcio – facilitando a ligação do Fator I ou fibrinogênio à superfície das plaquetas, bem como a modificação morfológica dessas células, nas quais os grânulos plaquetários são centralizados durante a secreção de substâncias que facilitam sua agregação com outras plaquetas -, as prostaglandinas, os nucleotídeos cíclicos – inibindo determinadas funções plaquetárias, como sua modificação na forma, a agregação, secreção e ligação com o fibrinogênio - e os fatores plaquetários (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.154-158). Os fatores plaquetários também são encontrados no citoplasma das plaquetas, sendo numerados de um a sete, tendo como mais importantes o fator plaquetário 3, que funciona como um mecanismo dessas células que acelera o consumo de protrombina, a formação de trombina e a formação de fibrina, tornando-se ativo somente após a estimulação plaquetária, e o fator plaquetário 6, também denominado antiplasmina, cuja função é inibir a atividade fibrinolítica plasmática (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.162-163).

As proteínas que possuem participação na coagulação podem ser distinguidas em pró-coagulantes, atuando na conversão de protrombina em trombina e na transformação de fibrinogênio em fibrina, e anticoagulantes, dificultando a formação do coágulo de fibrina. As primeiras encontram-se no plasma na forma de enzimas – serina-proteases, como os fatores XII, XI, X, IX, VII etc. – e de co-fatores, como os fatores V, VIII, cininogênio de alto peso molecular, entre outros (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.164-166).

Fator de Coagulação	Peso Molecular (Dálton)	Concentração no Plasma (µg/ml)	Vida Média no Plasma (Hora)	Atividade
<i>Via intrínseca</i>				
HMWK — cininogênio de alto peso molecular ou fator Fitzgerald	110.000	70		Co-fator
Precalcreína ou fator Fletcher	85.000	50		Serina protease
Fator XII ou fator Hageman	80.000	29	60	Serina protease
Fator XI ou antecedente tromboplástico do plasma	160.000	4	65	Serina protease
Fator IX ou fator Christmas	57.000	4	20	Serina protease
Fator VIII/vWF ou globulina anti-hemofílica/ fator von Willebrand	330.000 > 1.000.000	1 5-10	10 25	Co-fator
<i>Via extrínseca</i>				
Fator VII ou proconvertina	55.000	1	5	Serina protease
Fator tissular ou tromboplastina tissular ou fator III	45.000	0		Co-fator
<i>Via comum</i>				
Fator X ou fator Stuart-Prower	59.000	5	65	Serina protease
Fator V ou proacelerina	330.000	5-12	25	Co-fator
Protrombina ou fator II	70.000	100-150	100	Serina protease
Fibrinogênio ou fator I	340.000	1.500-4.000	120	Estrutura do coágulo
Fator XIII ou fator estabilizador da fibrina	300.000	10	150	Transamidase

Os fatores enzimáticos, VII, IX, XI, X e a protrombina, formam o grupo das proteases, possuindo uma estrutura basal bastante semelhante. Estas se relacionam com a tripsina e a quimiotripsina, duas enzimas digestivas, onde sua porção C-terminal será responsável pelo efeito enzimático catalítico e sua porção N-terminal caracterizará cada uma delas. Também existe relação entre os co-fatores, mas sua estrutura molecular diferencia-se da dos fatores enzimáticos. Na figura seguinte encontram-se presentes algumas características básicas dos fatores da coagulação.

Costuma-se separar os fatores participantes das vias intrínsecas e extrínsecas da coagulação em três grupos: os fatores vitamina K-dependentes, pois requerem a vitamina K para que possam completar sua síntese no fígado, a qual é proveniente da alimentação ou do metabolismo de bactérias presentes no trato gastrointestinal, os fatores da fase de contato e os fatores sensíveis à trombina. Dentre os primeiros - todos sintetizados pelo fígado, com exceção do fator X - são relatados o Fator II ou Protrombina, uma glicoproteína que sofre transformações enzimáticas³ a fim de clivá-la em dois fragmentos da molécula, denominados 1 e 2, e em outro fragmento denominado pretrombina 2, o qual, após uma segunda clivagem proteolítica, irá transformar-se em trombina; o Fator VII ou Proconvertina, também conhecido como autoprotrombina I, é uma glicoproteína encontrada no soro, atuando basicamente na via extrínseca da coagulação, mas podendo ativar o fator IX e até mesmo capaz de iniciar o mecanismo da coagulação⁴; o Fator IX ou Fator Christmas, mais conhecido como fator anti-hemofílico B, também é uma glicoproteína encontrada no soro e sua deficiência é responsável pela Hemofilia de tipo B; o Fator X ou Stuart-Prower, glicoproteína sérica podendo ser ativada pelo complexo IXa + VIIIa + Ca⁺⁺ + fosfolipídeos ou pelo fator VIIa + fator tissular, a partir do qual é gerado um trajeto comum às vias intrínseca e extrínseca; e as Proteínas C, atuando como um anticoagulante a partir da inibição - pela sua forma ativada⁵ - do fator Va e do fator VIII coagulante ativo (VIICa), S, é uma glicoproteína que funciona como um co-fator da proteína C e atua intensificando sua forma ativada, podendo ser sintetizada não somente no fígado, como também nas células endoteliais, megacariócitos e células de Leydig, M e Z (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.166-170).

³ O fator X ativado está intimamente ligado a esta transformação, principalmente após a sua associação com fosfolipídios ou plaquetas + fator V ativado, na presença de íons Ca⁺⁺, gerando um complexo chamado de protrombinase, responsável por aumentar a clivagem de protrombina.

⁴ Ao contrário da protrombina, o fator VII não necessita ser ativado por nenhuma enzima proteolítica, o que aumenta sua atividade durante a coagulação.

⁵ Esta ativação somente ocorre pela trombina, quando a mesma encontra-se ligada a trombomodulina.

No segundo grupo encontram-se o Fator XII ou Fator Hageman, glicoproteína encontrada no plasma e no soro, capaz de fixar sua porção denominada cadeia pesada em superfícies de carga negativa, ao mesmo tempo em que a cadeia leve ou o fator β XIIa é responsável por sua ativação⁶; o Fator XI ou Antecedente Tromboplástico do Plasma (PTA), também conhecido como fator anti-hemofílico C, é uma glicoproteína formada por uma cadeia leve, responsável pela atividade do fator em questão, e uma cadeia pesada, ligada por pontes dissulfídicas, e encontra-se ligado ao Fator Fitzgerald, formando um complexo que atua na ativação do fator IX; o Fator Fletcher ou Precalicroína, glicoproteína convertida em calicroína pelo fator XIIa, tornando-se capaz de ativar o fator XII, além de ativar a pró-renina em renina e formar um complexo com o Fator Fitzgerald; e o Fator Fitzgerald ou Cininogênio de Alto Peso Molecular (HMWK), um polipeptídeo circulante no plasma que transporta proteínas atuantes durante a coagulação, como já foi dito, e intensifica as reações que ocorrem nas superfícies dos tecidos lesados (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.172-173).

No terceiro grupo não há nenhum fator que pode ser encontrado no soro, pois todos são consumidos durante o processo de coagulação. O Fator I ou Fibrinogênio é formado:

“por três pares de cadeias polipeptídicas, denominadas alfa ($A\alpha$), beta ($B\beta$) e gama ($\gamma\gamma$), ligadas entre si por pontes dissulfídicas; ele se transforma em fibrina após clivagem, pela trombina, dos pontos de ligação arginina-glicina. Liberam-se assim dois peptídeos, denominados fibrinopeptídeos A e B, a partir da porção terminal das cadeias alfa e beta. A plasmina digere-o liberando dois fragmentos resistentes a essa digestão, denominados fragmentos D e E” (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.170).

O Fator V ou Proacelerina é inibido pela proteína C e pela ação da mesma torna-se ativado, sendo ainda um co-fator do fator Xa, facilitando o acúmulo do mesmo na membrana das plaquetas. Possui importante participação na coagulação ao se agrupar na forma $Va + Xa + Ca^{++} +$ fosfolipídeos, para ativar a protrombina e transformá-la em fibrina. O Fator VIII ou Fator Anti-Hemofílico A na realidade é um complexo formado pelo fator VIII coagulante (VIII:C), ativado pela trombina e inativado pela plasmina, e pelo fator von Willebrand (fvW), não sendo modificado pela trombina, daí pode ser encontrado no soro, e parcialmente inativado pela plasmina. De origem desconhecida, supõe-se que o primeiro é sintetizado no fígado, mas podendo ainda ser encontrado em tecidos, nas

⁶ A clivagem de uma parte diferente do fator XII geraria um fator α XIIa com menor capacidade de ativação mas capaz de ativar a precalicroína em calicroína.

plaquetas, nos megacariócitos e células endoteliais, enquanto o segundo é produzido pelos megacariócitos e pelas plaquetas, tanto nas células endoteliais como nos grânulos alfa, mas pode ser encontrado no subendotélio. A deficiência do fator VIII:C está presente na hemofilia do tipo A e a do fvW está presente na Doença de von Willebrand. O Fator XIII, diferentemente das outras enzimas, quando se encontra na forma ativada é uma transamidase, muito importante para estabilizar o coágulo de fibrina, daí por ser também conhecido como Fator Estabilizador da Fibrina, pois forma pontes covalentes entre os monômeros de fibrina, além de utilizar fibronectina, glicoproteína sintetizada por células endoteliais encontrada em grande quantidade nos grânulos alfa das plaquetas, facilitando a ligação destas com o endotélio lesado, para ligar a fibrina ao colágeno (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.170-172).

O Fator III, também denominado Fator Tissular, ou simplesmente Tromboplastina Tecidual, está intimamente ligado à ativação da via extrínseca da coagulação, sendo considerado o principal iniciador da coagulação. Esse complexo lipoprotéico, presente em órgãos como o cérebro, o pulmão e a placenta, ou nos monócitos, é liberado quando ocorre lesão do endotélio vascular, que promove a ligação deste ao Fator VII e inicia a coagulação propriamente dita (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.174).

O Fator IV, por sua vez, é representado pelos íons Ca^{++} , sem os quais não poderia haver a coagulação, sendo importantíssimos na ativação de inúmeros fatores, sobretudo os vitamina K-dependentes. É considerado um elo entre as duas vias da coagulação, devido a sua atuação na formação dos complexos com os fatores de coagulação (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.175).

CAPÍTULO II

HEMOSTASIA

2.1- Mecanismo Hemostático

Segundo McMillan:

“a hemostasia pode ser definida como a soma total das funções especializadas do sangue circulante e seus vasos, destinadas a interromper a hemorragia. Estas funções são finamente equilibradas, de tal forma que, apesar de o sangue circular no interior dos vasos intactos, os locais de sangramento podem ser vedados pela formação e deposição subsequente de coágulos sangüíneos. A hemostasia é mediada principalmente pelas paredes dos vasos sangüíneos, plaquetas e fatores plasmáticos especializados. Por sua vez, os fatores plasmáticos consistem em fatores da coagulação diretamente envolvidos na formação do coágulo, em fatores fibrinolíticos destinados a remover o coágulo e em inibidores naturais da coagulação e fibrinólise que ajudam a controlar estas forças potentes” (McMillan, *op. cit.*, p.628).

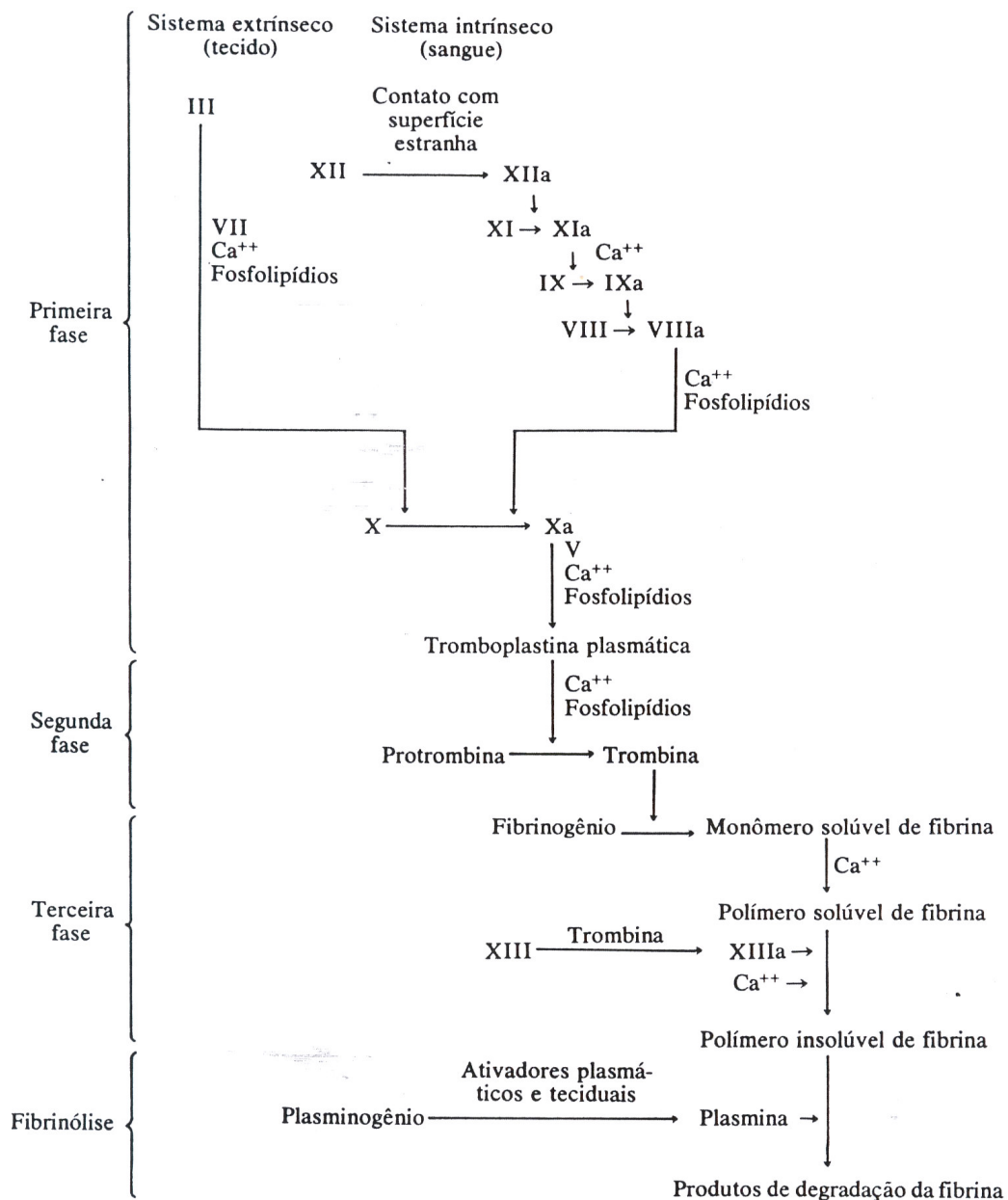
Para facilitar o estudo deste complexo mecanismo, divide-se o mesmo em três etapas distintas, seguindo uma seqüência de eventos: a fase vascular, a fase plaquetária e a fase plasmática⁷.

Primariamente, a resposta dada por este mecanismo ao entrar em contato com um sangramento qualquer consiste na interação entre o endotélio vascular e as plaquetas, para que seja formado um trombo plaquetário temporariamente, o qual será substituído pela ação conjunta daquelas com proteínas plasmáticas, através de uma série de reações bioquímicas e enzimáticas, formando um coágulo resistente de fibrina. Após isto ocorre a dissolução do coágulo a partir de substâncias constituintes do sistema fibrinolítico, restaurando o fluxo sangüíneo encontrado anteriormente.

Existe a ocorrência de três fatores reguladores da hemostasia, dentre eles, os extravasculares, compostos por tecidos que se encontram na periferia dos vasos, cujos efeitos físicos auxiliam o fechamento dos mesmos em estado de lesão, e seus efeitos

⁷ Alguns autores admitem a existência de duas fases, a Hemostasia Primária e a Hemostasia Secundária, sendo a fase vascular e a fase plaquetária incluídas na primeira, enquanto a fase plasmática encontra-se na segunda.

bioquímicos, cuja origem relaciona-se com as substâncias liberadas pelos tecidos traumatizados, iniciam a ativação da coagulação intravascular e sua reação com fatores plaquetários e plasmáticos; os intravasculares, que compreendem todos os fatores que possuem participação durante a coagulação sangüínea; e os vasculares, inter-relacionados ao complexo tecidual lesado, que sofre contração e retração constantemente, decorrente da liberação de histamina ou de algum reflexo local. Na figura seguinte estão indicados esses processos, os quais serão discriminados nas próximas páginas.



2.1.1 - Fase 1 – Constrição Vascular

A estrutura fisiológica dos vasos sanguíneos baseia-se na existência de três túnicas, que perdem a sua distinção de acordo com a diminuição do calibre dos vasos, geralmente sendo dificilmente identificadas nos capilares sanguíneos. A túnica íntima é a camada mais interna, formada por células endoteliais planas ou achatadas, de formas oval ou fusiforme e núcleo arredondado ovóide ou achatado, justapostas e orientadas no mesmo sentido do fluxo sanguíneo, as quais se apóiam em uma camada subendotelial de tecido conjuntivo frouxo constituído por fibras musculares, colágenas, elásticas e glicoproteínas (Verrastro, 2002, p.182-183). Além de possuir carga elétrica negativa, o que impede a formação de trombos, suas células são responsáveis pela secreção de substâncias com atividade anticoagulante, como heparan sulfato - proteoglicana capaz de acelerar as reações catalisadas pelo inibidor primário da trombina, a antitrombina -, trombomodulina, prostaciclina, ativadores do plasminogênio, que funciona como uma enzima capaz de se transformar em plasmina e promover a dissolução dos trombos, e inibidor do fator tissular; e pró-coagulante, por exemplo, fator de von Willebrand e inibidor da ativação do plasminogênio. Análogo a isso, a presença das células endoteliais inviabiliza o contato entre o subendotélio e as plaquetas circulantes na corrente sanguínea, funcionando como um anticoagulante⁸.

A trombomodulina é uma proteína de membrana com muita afinidade em relação à trombina, formando com esta o chamado complexo trombomodulina-trombina e gerando inativação do poder proteolítico da trombina, no sentido de diminuir a agregação plaquetária e a ativação dos fatores V, XIII e fibrinogênio, ao mesmo tempo em que ativa a proteína C, como já havia sido citado anteriormente. Essa proteína é capaz de degradar rapidamente a trombina e, de forma indireta, liga-se ao fator Xa e inibe o complexo protrombinase (Morelli, 2001, p.734).

A prostaciclina (PGI₂) é liberada em pequenas quantidades pelas células endoteliais, mas uma estimulação por agentes agonistas, como a trombina, a histamina e a bradicinina, ativam a fosfolipase A₂, que “catalisa a liberação de ácido araquidônico através de moléculas de fosfolípidios, servindo de substrato para a cicloxigenase, que o

⁸ A diminuição do fluxo sanguíneo e o rompimento de alguma região do endotélio vascular permitem a exposição do subendotélio, o que acarreta uma alteração hemostática, principalmente a ativação do fator considerado o principal iniciador da coagulação, o fator tissular. Esta alteração também pode ocorrer caso haja alteração no equilíbrio existente entre as funções anticoagulantes e pró-coagulantes das células endoteliais.

converte em prostaglandina G₂ (PGG₂)” (Morelli, *op. cit.*, p.733). Esta molécula atua como importante vasodilatador e inibidor da ativação e agregação plaquetária, já que inibe a atividade do fator plaquetário 3 (FP₃) e bloqueia o aparecimento de receptores de membrana plaquetária para o fibrinogênio e o fator de von Willebrand. A peroxidase pode reduzir a molécula de PGG₂ a PGH₂, precursor comum para a síntese de prostaglandinas, prostaciclina e tromboxane, sendo que nas células, a enzima prostaciclina sintetase realiza a conversão de PGH₂ em PGG₂ (Mano, 2005).

As células endoteliais secretam algumas enzimas proteolíticas, como o ativador do plasminogênio do tipo tecidual (tPA) ou o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (uPA), ligando-se ao plasminogênio na superfície do coágulo de fibrina, promovendo a hidrólise de uma ponte peptídica e resultando na formação da serino-protease ativa, a plasmina. Essas interações ocorrem no período denominado fibrinólise, quando inúmeras proteínas atuam em conjunto para degradar o coágulo de fibrina formado (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.181).

A túnica média é composta por fibras colágenas, elásticas e reticulares, fibroblastos e células musculares lisas, ligadas por uma malha de tecido conjuntivo. “O colágeno é uma proteína que inicia a adesão das plaquetas e ativa outro fator da coagulação, o fator XII, cuja função é iniciar a via intrínseca da cascata da coagulação, ao mesmo tempo em que se ativa o mecanismo da fibrinólise” (Lorenzi, *op. cit.*, p.159). As camadas localizadas mais próximas do endotélio possuem função anticoagulante, assim como as mais distantes apresentam substâncias procoagulantes.

A túnica externa ou adventícia é formada por tecido conjuntivo frouxo, contendo fibras colágenas de tipo I e elásticas, onde se localizam os vasos nutrientes e fibras nervosas.

Durante o funcionamento da hemostasia em um indivíduo normal, as células endoteliais têm como principal função garantir a manutenção do fluxo sanguíneo sem que haja formação indevida de trombos. Entretanto, a lesão das mesmas determina a função inversa, uma vez que necessita evitar a perda de sangue.

Logo após um traumatismo em que ocorra rompimento da parede vascular, esta é contraída de forma que tenha por objetivo a redução do fluxo sanguíneo da região. Essa vasoconstrição é mediada pela serotonina liberada pelas plaquetas circulantes. O resultado deste controle é a adesão e subsequente ativação das plaquetas, que têm como característica a formação de um tampão plaquetário a fim de se evitar a perda de sangue. Deve-se salientar que a membrana celular das plaquetas é constituída:

“por uma camada de glicoproteínas que impede a aderência das mesmas ao endotélio normal, mas que permite sua aderência à áreas lesadas da parede vascular, em particular às células endoteliais lesadas e, sobretudo, a qualquer colágeno exposto das camadas mais profundas da parede vascular” (Guyton, *op. cit.*, p.341).

▪ Fase 2 – Agregação Plaquetária

Quando o endotélio vascular encontra-se íntegro, a circulação das plaquetas no plasma ocorre de forma natural, mas a lesão da superfície endotelial implica na modificação de algumas características manifestadas pelas plaquetas para que permita sua aderência à região lesada e possa ocorrer a formação de um trombo plaquetário de forma a conter o sangramento. As plaquetas posicionam-se estrategicamente junto ao endotélio, para que sua função de formação do tampão plaquetário durante o processo da hemostasia seja realizada de forma mais facilitada.

A primeira modificação decorrente desta agregação ocorre em sua membrana externa, na qual os fatores agonistas, dentre eles a trombina, adenosina difosfato (ADP), tromboxane A₂, serotonina, prostaglandinas e o fator de ativação plaquetária, ligar-se-ão aos receptores específicos de membrana. De acordo com Mano:

“Com a exposição de estruturas subendoteliais, as plaquetas ligam-se ao colágeno por meio de sítios específicos, o complexo formado pelas glicoproteínas Ib⁹ e IX (GP IbIX), que também se liga ao fator plasmático, o fator von Willebrand, formando uma ponte entre as plaquetas e o subendotélio” (Mano, *op. cit.*).

Devido à junção, percebe-se alteração morfológica, havendo o inchaço e a reorganização do citoesqueleto a partir da emissão de pseudópodes.

Além dessa alteração morfológica, a interação entre esses agonistas e seus receptores “desencadeiam a liberação de constituintes dos grânulos plaquetários e a síntese de novos agonistas, amplificando o fenômeno de ativação” (Morelli, *op. cit.*, p. 736), através de um sinal gerado que é transmitido para o interior da célula, responsável por transformar os compostos fosforilados em mensageiros intracitoplásmicos, ocasionando uma série de eventos posteriores que ativarão maior número de plaquetas. Este evento é

⁹ A glicoproteína Ib como um receptor para a trombina.

considerado, por muitos autores, como um ciclo vicioso onde se torna cada vez maior o número de plaquetas que aderem à região lesada.

Existe um mecanismo responsável por otimizar ou diminuir a ligação entre os receptores de membrana e seus respectivos agonistas, denominado *shear rate/stress*. *Shear rate* pode ser descrito como a velocidade do sangue circulante, considerada menor próxima à parede vascular, em detrimento com um aumento no centro, resultando na criação de camadas justapostas com diferentes velocidades de fluxo, onde são encontradas as plaquetas que irão interagir com a superfície lesada. Por sua vez, estas contribuem para a formação de atrito entre elas, gerando colisão entre as plaquetas circulantes entre si e destas com o endotélio, fenômeno denominado *shear stress* (Morelli, *op. cit.*, p. 736).

No citoplasma das plaquetas, as proteínas ligadoras de guanina (proteínas G) são ativadas de forma que passam a se ligar a moléculas de guanina difosfato (GDP) que se encontrem em repouso. Esta ligação interage com um receptor específico de membrana, tornando livre a molécula de GDP e sendo substituída por outra, de guanina trifosfato (GTP), que interage com a enzima fosfolipase C. Esta enzima iniciará a resposta plaquetária, a partir da conversão de um composto fosforilado em segundo mensageiro.

Segundo Mano:

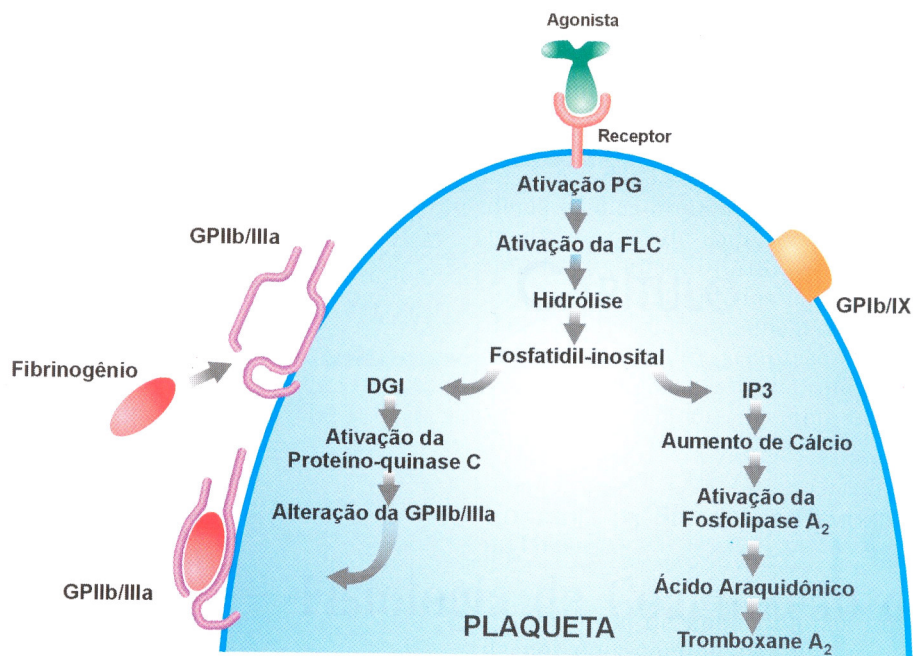
“A fosfolipase C é uma família de enzimas que representam o segundo mensageiro para agonistas plaquetários como a trombina, o colágeno, o PAF, os endoperóxidos de prostaglandinas, a desmopressina e a adrenalina. Sua função é quebrar uma ligação na molécula do fosfatidil inositol (PIP₂) da membrana plaquetária, formando dois compostos importantes na ativação plaquetária: o inositol trifosfato (IP₃), que atua aumentando o cálcio intracitoplasmático, e o diacilglicerol (DG), que ativa a proteína cinase C” (Mano, *op. cit.*).

Isto leva à alteração da conformação da GP IIb/IIIa, possibilitando sua interação com o fibrinogênio, promovendo assim a interação entre plaquetas. Nota-se, contudo, que a ligação do fibrinogênio à GP IIb/IIIa é dependente dos íons Ca⁺⁺, não ocorrendo caso a plaqueta não tenha sido ativada. O aumento do cálcio ocorre de forma simultânea e estimula várias etapas da agregação plaquetária.

Análogo a isso, o IP₃ faz ligações com receptores de membrana do sistema tubular denso, aumentando ainda mais a participação do cálcio nesse processo.

A ligação entre o fvW e a GPIb permite o aumento do fluxo de íons Ca⁺⁺ para o interior celular, ativando a GP IIb/IIIa e promovendo sua interação com o fvW. O cálcio

intracitoplasmático faz ligação com a calmodulina e promove a secreção de grânulos plaquetários, contendo ADP e serotonina, o que resulta na vinda de mais plaquetas circulantes para a região. O cálcio ainda ativa a fosfolipase A_2 , capaz de liberar ácido araquidônico a partir do fosfatidilinositol, constituinte da membrana plaquetária, o que inicia a síntese de prostaglandinas e de tromboxane A_2 . O ácido araquidônico sofre deacilação, por meio da via ciclo-oxigenase, que o transforma em endoperóxidos de prostaglandinas: prostaglandina G_2 (PGG_2) e prostaglandina H_2 (PGH_2). Estes são então transformados em tromboxane A_2 pela ação da tromboxane sintetase, presente apenas nas plaquetas. O tromboxane A_2 também recruta novas plaquetas para o local de formação do trombo (Mano, *op. cit.*). A figura a seguir mostra a etapa de ativação das plaquetas.



Segundo Verrastro:

“a tromboxane A_2 , assim como o ADP, é um agregante plaquetário, mas também apresenta uma ação vasoconstritora, diminuindo a luz do vaso. Com o fluxo sanguíneo diminuído no nível da lesão vascular decorrente da vasoconstrição, há maior interação entre os fatores da coagulação” (Verrastro, *op. cit.*, p.182).

Na figura 3, pode ser percebido que o trombo hemostático primário está formado pelas plaquetas aderidas às fibras de colágeno tendo como ligante (seta 2) GP Ia/IIa do colágeno, fvW como ponte e GP Ib/IX/V da plaqueta (adesividade plaquetária). As

plaquetas estão aderidas umas às outras pelo ligante (seta 1) GP IIb/IIIa das plaquetas tendo o fibrinogênio como ponte (agregação plaquetária).

O tamanho do rompimento do vaso sangüíneo será o determinante para a ativação do processo de coagulação propriamente dita, pois uma pequena lesão é possivelmente controlada pela formação do trombo plaquetário, o que não acontece em casos de lesão vascular de maiores proporções, nos quais ocorre a necessidade da formação de um coágulo de fibrina para que o sangramento seja contido.

Para que todo esse mecanismo não ocorra, deve-se inibir a ativação plaquetária, impedindo a liberação de cálcio intracitoplasmático do sistema tubular denso, pela ação do AMP cíclico, catalisado pela ação conjunta do ATP com a adenil-ciclase, ativada pela liberação de prostaciclina pelas células endoteliais, impedindo então que as enzimas atuantes neste processo possam exercer sua função. Caso não existisse esse controle por partes de inibidores naturais, poderia haver um aumento deste mecanismo, resultando em casos de trombose.

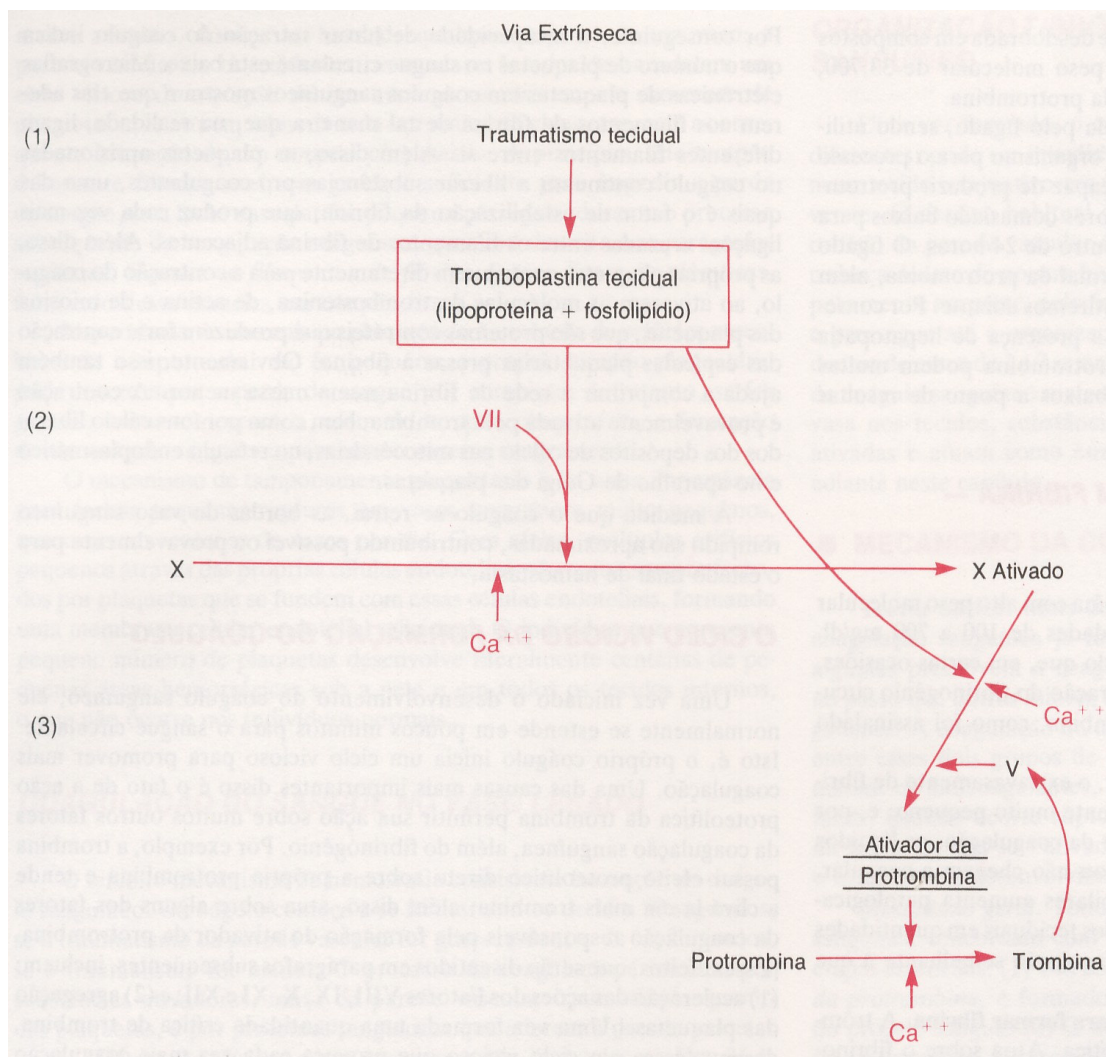
2.1.3 - Fase 3 – Formação do coágulo e fibrinólise

Esta etapa é mediada por substâncias diferentes que são responsáveis pela promoção ou não da coagulação. Em sua normalidade, as substâncias predominantes no sangue são conhecidas como anticoagulantes ou inibidoras naturais da coagulação, que impedem a coagulação do sangue a partir da não-formação do coágulo de fibrina. Há ainda substâncias pró-coagulantes, responsáveis por promover a coagulação sangüínea. Estas somente predominam em caso de rompimento da parede vascular, tornando-se ativadas, para desenvolver a função de formação de um coágulo sangüíneo.

A coagulação também pode ser dividida em três etapas diferenciadas, cada qual com sua função característica; a primeira consiste na formação de “um complexo de substâncias, denominado ativador da protrombina, em resposta à ruptura do vaso ou à lesão do próprio sangue” (Guyton, *op. cit.*, p.342). A ativação da protrombina determina a segunda etapa, caracterizada pela conversão da protrombina em trombina. Por sua vez, a trombina irá converter o fibrinogênio em monômeros de fibrina, formando um coágulo composto por polímeros de fibrina. Ainda pode ser creditada uma etapa seguinte a essas, na qual ocorre a estabilização desses polímeros pela ação do fator XIII, resultando em um coágulo firme e estável.

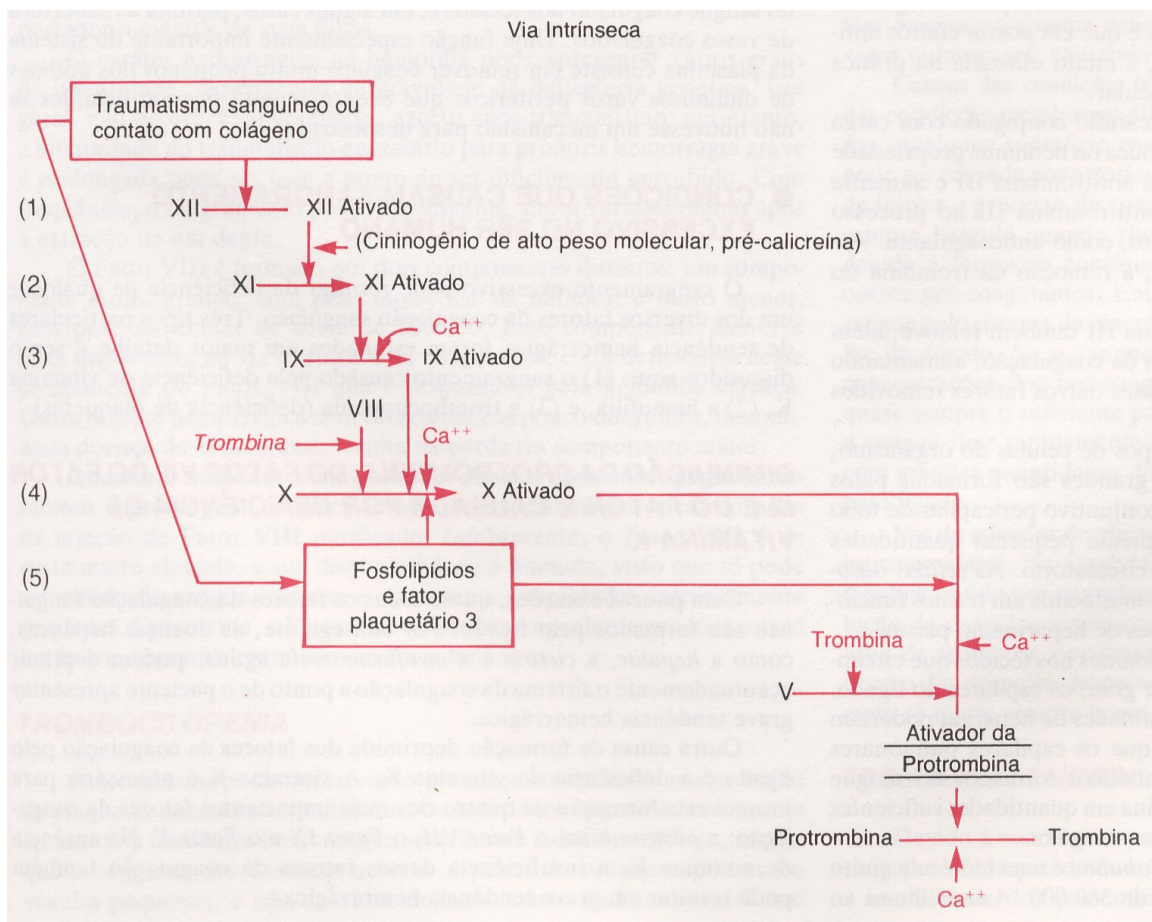
Para explicar o mecanismo de ativação, costumava-se dividir a coagulação em duas vias distintas, que ocorriam seqüencialmente e resultavam em uma via comum, teoria atualmente descartada pela realização de estudos detalhados, os quais demonstram que essas vias ocorrem de forma simultânea.

A via extrínseca é iniciada pelo contato do sangue com componentes que geralmente não estão presentes no espaço intravascular, isto é, o contato direto com o tecido lesado é responsável pela liberação de um complexo contendo vários fatores, dentre eles a tromboplastina tecidual (fator III), fosfolipídios e outras glicoproteínas com ação proteolítica. Esse complexo combinar-se-á com o fator VII e, na presença de íons Ca^{++} e fosfolipídios, como o fator plaquetário 3, atua enzimaticamente sobre o fator X, ativando-o (Guyton, *op. cit.*, p.343-344).



Ativação da via extrínseca da coagulação.

Ao mesmo tempo, a via intrínseca é ativada pela atuação de substâncias estritamente intravasculares, após exposição do sangue, através do fator de contato FXII, a elementos do colágeno endotelial. Essa ligação permite sua ativação a partir da formação de um complexo deste com o cininogênio de alto peso molecular e a precalicreína, tornando-se FXIIa, que, por sua vez, converte o fator XI em FXIa¹⁰. Este atua sobre o fator IX, transformando-o em FIXa, que irá ativar o fator VIII, tornando-se FVIIIa, e formará um complexo com os íons Ca⁺⁺ e o fator plaquetário 3, capaz de converter enzimaticamente o fator X, transformando-o em FXa. Sendo assim, tem-se início a via comum da coagulação, pois, a partir de qualquer uma das duas vias, ocorre a formação de um complexo composto pelo fator X ativado, o fator V, íons Ca⁺⁺ e fator plaquetário 3, originando a tromboplastina plasmática, também denominada ativador da protombina. Nesta reação, o fator X ativado é considerado a verdadeira enzima proteolítica (protrombinase) atuante sobre a protombina, tendo o fator V ativado e o fator plaquetário 3 papel de aceleradores desse processo (Guyton, *op. cit.*, p.344-345).



Ativação da via intrínseca da coagulação.

¹⁰ O fator XI ativado pode transformar a pré-caliceína em caliceína, acelerando a ativação do FXII e, por fim, resultando em um ciclo onde cada vez mais os fatores iniciais eram ativados, otimizando a coagulação.

As novas descobertas também permitiram que um equívoco fosse reparado: acreditava-se ser a via intrínseca mais importante que a via extrínseca, mas isto foi negado ao se perceber que a deficiência dos fatores de contato da coagulação não era responsável pelo aparecimento de doenças hemorrágicas, enquanto que a deficiência no fator XI é responsável por casos leves de sangramento, ao passo que alterações nos níveis do fator VII levam à casos de hemorragias semelhantes à hemofilia, podendo-se concluir que a via extrínseca é a principal iniciadora do mecanismo da coagulação (Franco, 2001, p.741).

A protrombinase, juntamente com íons Ca^{++} e fator plaquetário 3, atuam sobre a protrombina, convertendo-a em trombina. Esta forma ativada, além de atuar sobre as plaquetas no sentido de aumentar sua ativação, clivará enzimaticamente moléculas de fibrinogênio, liberando fibrinopeptídeos denominados A e B e transformando-o em monômeros de fibrina, os quais farão ligações longitudinais e laterais, formando os polímeros de fibrina. Tais ligações são concretizadas por ligações não-covalentes fracas de hidrogênio, fazendo essa ser conhecida como fibrina solúvel, devido ao seu rápido rompimento. Entretanto, a trombina atuará, na presença de íons de cálcio, sobre o fator XIII, que formará ligações covalentes entre os monômeros de fibrina e inúmeras ligações cruzadas entre seus filamentos, tornando o coágulo estável e insolúvel.

Em poucos minutos após a formação do coágulo, tem-se início a fase de retração do mesmo, requerendo participação obrigatória das plaquetas. Neste período ocorre a liberação do soro, líquido restante do coágulo, onde estão ausentes a maior parte dos fatores da coagulação e o fibrinogênio, sendo, portanto, diferente do plasma devido à sua incapacidade de coagulação. “À medida que o coágulo se retrai, as bordas do vaso sangüíneo rompido são aproximadas, contribuindo possível ou provavelmente para o estado final de hemostasia” (Guyton, *op. cit.*, p.343).

Como já foi dito, a trombina possui participação em inúmeras fases da coagulação, além de atuar em outras etapas, desde a ação proteolítica sobre a protrombina, para que ela possa clivar-se em mais trombina, até atuar sobre alguns fatores da coagulação inseridos no processo de formação da protrombinase. Dessa forma, há um crescimento prolongado do coágulo de forma que exige a participação de substâncias capazes de conter semelhante crescimento, impedindo a possível trombose.

Existem diversos mecanismos que regulam essa etapa da coagulação, compostos por proteínas que funcionam como anticoagulantes naturais, como por exemplo, o TFPI ou inibidor da via do fator tecidual, uma proteína produzida pelas células endoteliais, que regula a atuação do complexo FVIIa/FT sobre os fatores IX e X da coagulação, através da

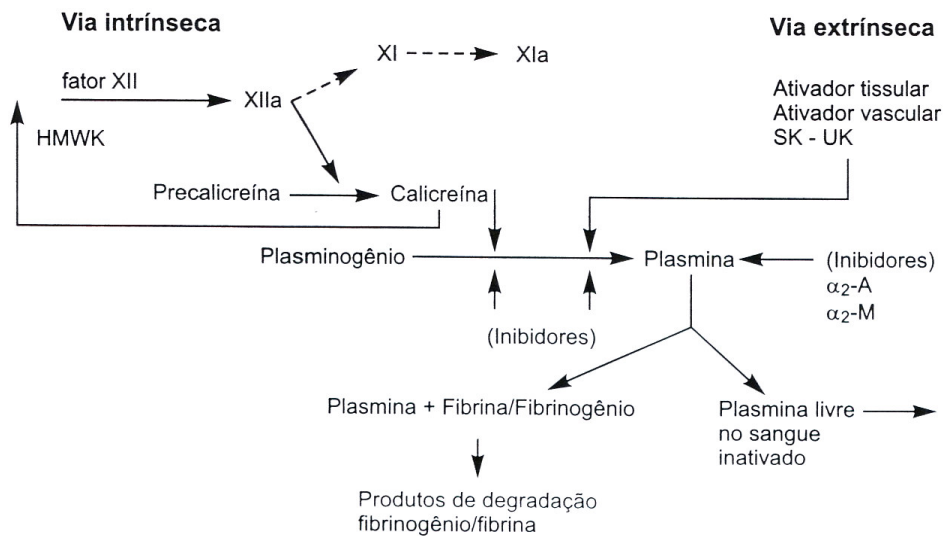
inibição dos mesmos; a proteína C e a proteína S, inibindo a ação dos fatores Va e VIIIa, a partir da ligação entre trombina e trombotrombina; a antitrombina III, alfa-globulina capaz de se combinar com a trombina que não se liga aos filamentos de fibrina, tendo sua ação aumentada pela interação com a heparina ou com o heparan-sulfato; e a alfa₂-macroglobulina, cuja função reside em atuar como “agente de fixação para vários dos fatores da coagulação, impedindo suas ações proteolíticas” (Guyton, *op. cit.*, p.346), e posterior destruição por outras substâncias que não essa, participando até mesmo das condições normais em que se evita a formação de coágulos. Além disso, as células do sistema reticuloendotelial fagocitam substâncias capazes de converter os fatores da coagulação em seus modelos ativados, ou mesmo na ativação da fibrina.

Após a formação do coágulo e a ação de anticoagulantes sobre o mesmo, faz-se necessário que um novo sistema seja ativado com a finalidade de dissolver os filamentos de fibrina, possibilitando uma reorganização do fluxo sanguíneo e reparação do vaso afetado. Esse processo, denominado fibrinólise, é composto por duas fases, na primeira ocorre a conversão do plasminogênio em plasmina, através de substâncias ativadoras de plasminogênio, e na segunda há a proteólise da fibrina e outros substratos da plasmina.

A ativação do plasminogênio pode ocorrer por três vias diferentes: a via intrínseca, envolvendo a presença do fator XII, da pré-caliceína, do fator XI e do cininogênio de alto peso molecular, que se ligarão ao plasminogênio circulante, convertendo-o em plasmina; a via extrínseca, considerada a principal delas, onde há atuação de ativadores do plasminogênio; e através de ativadores exógenos, como a estreptoquinase e a estafiloquinase (Verrastro, *op. cit.*, p.189-190).

Esse sistema possui inibidores pertencentes ao grupo de proteínas serpinas, cuja função é inibir as proteases séricas, e enzimas pertencentes ao grupo das serina-proteases, pois apresentam um sítio ativo composto pelos aminoácidos serina, ácido aspártico e histidina. Os ativadores do plasminogênio, já citados, do tipo tecidual (t-PA) e do tipo uroquinase (u-PA), atuam sobre o plasminogênio ou profibrinolisin, que se encontra preso juntamente ao coágulo, apenas ao serem liberados pelas células endoteliais, formando a plasmina (forma ativa do plasminogênio, também conhecida como fibrinolisin), que remove o coágulo, transformando-o em pequenas partículas denominadas produtos de degradação da fibrina, depurados rapidamente do organismo, a partir da atuação do sistema reticuloendotelial, especificamente pelas células de Kupfer, no fígado, órgão este responsável pela produção de plasminogênio. A plasmina é ainda capaz de digerir vários fatores da coagulação necessitando ser inibida para evitar uma ação desenfreada; esta

inibição pode ocorrer pela presença do fator alfa₂-antiplasmina (Lorenzi *et al.*, *op cit.*, p.181).



Ativação do plasminogênio pelas vias intrínseca e extrínseca.

Há alguns anos foi descoberta a existência de uma pró-enzima plasmática capaz de inibir o mecanismo da fibrinólise a partir da ativação desta pela trombina, pela plasmina e pela tripsina. O TAFI, ou inibidor da fibrinólise ativado pela trombina, quando ativado, torna-se capaz de inibir a fibrinólise a partir da remoção de “resíduos de lisina da molécula de fibrina durante o processo de lise do coágulo, suprimindo assim as propriedades de co-fator da fibrina parcialmente degradada na ativação do plasminogênio” (Franco, *op. cit.*, p.747). Esta enzima é tão dependente da trombina que necessita ser ativada pelo mesmo sistema que ativa a proteína C, o complexo trombina-trombomodulina, tornando-se um elo entre os mecanismos de coagulação e fibrinolítico.

2.2- Alterações em gestantes e neonatos

A hemostasia em gestantes e neonatos pode ter algumas alterações, as quais não significarão sempre que há alguma enfermidade relacionada à não-produção de algum fator plasmático, mas sim muitas vezes fazem parte de adaptações que o corpo da mulher precisa sofrer para gerar uma nova vida, ou ainda criar mecanismos para fazer parte de um mundo relativamente estranho, no caso dos recém-nascidos.

Não existem muitos estudos comprobatórios sobre os dados que serão informados a seguir, principalmente devido à dificuldade de obter uma amostra sanguínea de recém-

nascidos, pois exige rígidos cuidados para que não haja alteração do resultado, desde o tempo decorrido do início da punção venosa até o sangue ser misturado com citrato¹¹, que não deve demorar mais de um minuto, até a quantidade citrato a ser utilizada, a qual deve ser ajustada para hematócritos¹² de mais de 50%, a fim de que não haja excesso de citratação nem diluição plasmática, o que diminuiria a atividade de alguns fatores. Em recém-nascidos prematuros observa-se deficiência em algumas funções plaquetárias, embora o volume encontrado no sangue neste período seja considerado normal, assim como o tempo de sangramento (McMillan, *op. cit.*, p.637).

Existem dois pontos a serem considerados para se entender porque a função plaquetária é menos deficiente em recém-nascidos a termo¹³ e prematuros do que em adultos. O primeiro diz respeito à agregação, pois as plaquetas não realizam tão bem essa atividade quanto os adultos, em resposta à trombina, ADP e colágeno; o segundo relaciona a susceptibilidade das plaquetas do recém-nascido com relação à inibição da agregação por drogas, que ocorre de forma mais intensiva do que no adulto (Pearson, *op. cit.*, p.6).

Com relação à participação dos vasos sangüíneos, não é possível perceber possíveis alterações devido à ausência de informações, que somente indicam terem os recém-nascidos prematuros uma maior fragilidade capilar que os recém-nascidos a termo, que possuem fragilidade capilar normal. Estas observações foram feitas após a realização de testes, como tempo de sangramento e testes de fragilidade capilar (McMillan, *op. cit.*, p.637).

Estudos demonstram que por toda a vida de um indivíduo normal, os níveis plasmáticos dos fatores da coagulação circulantes no sangue permanecem os mesmos. Durante a gravidez, percebe-se que alguns componentes podem ter seus níveis aumentados, como é o caso do fibrinogênio, que sofre uma elevação de cerca de 50% de sua concentração normal, e dos fatores VII, VIII, IX e X, além do plasminogênio, o qual não influi em um aumento da fibrinólise, muito pelo contrário, esta está diminuída devido ao aumento da concentração do inibidor de plasminogênio no sangue (Cavalcante & Alencar Jr, 2005). Mesmo assim, acredita-se que não há influência destes no neonato porque não são capazes de atravessar a barreira placentária, e uma possível alteração no feto seria determinada pela presença de uma doença genética, podendo a mãe somente ser

¹¹ Anticoagulante responsável por transformar o cálcio em forma não ionizada, utilizado em grande parte das provas laboratoriais de coagulação. Além disso, pode retirar água dos eritrócitos, diluindo o plasma.

¹² Volume de eritrócitos encontrados em uma quantidade pré-estabelecida de sangue total.

¹³ Fetos que possuem vida acima de trinta e sete semanas de gestação e menos de quarenta e duas semanas; antes disso são considerados pré-termos, ou prematuros, e depois, são chamados pós-termos.

portadora da mesma, como é o caso da hemofilia, diagnosticada em recém-nascidos a partir da obtenção e análise de sangue proveniente do cordão umbilical, no qual são percebidas diminuições dos fatores VIII ou IX. Concomitante a isso, os fatores I, VII e X foram investigados pelo colhimento de sangue venoso e arterial umbilical e notou-se ausência de relação destes com o sangue materno, confirmando que todas essas substâncias já estariam sendo sintetizadas pelo próprio feto (Pearson, *op. cit.*, p.6).

O tempo de coagulação de recém-nascidos a termo foi observado e não sofre alteração ou é um pouco mais rápido do que o mesmo em adultos, entretanto não significa que as alterações entre os níveis dos fatores não possam ocorrer. Segundo Pearson:

“as atividades dos fatores II, VII, IX e X são aparentemente baixas, mas estas reduções não costumam afetar o tempo de protrombina ou o tempo de tromboplastina parcial, que são normais ou ligeiramente prolongados ao nascimento. Os níveis de fatores V, VIII e XIII estão dentro dos limites normais ou podem estar até elevados durante o período neonatal” (Pearson, *op. cit.*, p.6).

Verifica-se que logo após o nascimento, o nível dos fatores da coagulação vitamina K dependentes (II, VII, IX e X) diminui, atingindo um valor mínimo nas primeiras 48-72 horas de vida. Após esse intervalo de tempo, os níveis aumentam, contudo somente atingem os valores normais presentes em adultos por volta dos nove meses de idade.

A fibrinólise no neonato encontra-se aumentada, principalmente devido à presença de atividade aumentada de ativador do plasminogênio, ao mesmo tempo que este encontra-se diminuído. “A atividade diminuída dos inibidores naturais da coagulação e fibrinólise pode contribuir para a sensibilização da hemostasia neonatal” (McMillan, *op. cit.*, p.637).

CAPÍTULO III

HEMOFILIA

A fonte bibliográfica mais antiga¹⁴ que relata os primeiros casos de hemofilia é o Talmud, livro dos judeus datado do século II. Neste são encontrados dois relatos de famílias que perderam seus dois primeiros filhos após a circuncisão devido a uma intensa hemorragia e tiveram seu terceiro filho liberado desta tradição judaica. Mesmo desconhecendo as causas aparentes dessa reação, os rabinos perceberam que somente algumas famílias enfrentavam essa situação, o que levou ao médico Moses Maimonides expandir esta regra aos filhos de mulheres que haviam sido casadas duas vezes (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.714).

Durante os séculos que se seguiram, muitos casos estavam sendo descritos, geralmente apresentando os mesmos sintomas: pequenos ferimentos levavam ao sangramento até a morte. Porém, somente após o século XIX foram descritas informações mais abrangentes sobre a Hemofilia.

Em 1803, Otto percebeu que as mulheres, aparentemente normais, transmitiam essa enfermidade, mas somente os homens apresentavam sintomas hemorrágicos, percebendo então que se tratava de uma doença hereditária. Esta foi designada por Hopff em 1828, nomeando-a de hemofilia – do grego *haima*, sangue, e *philia*, amor, amizade, significando, portanto amor ao sangue (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.714). Em 1840, o médico Samuel Lane decidiu realizar a primeira transfusão sangüínea de um paciente normal, pois havia percebido que tal enfermidade relacionava-se à ausência de determinada substância, e, após tal ato, houve cessação da hemorragia, mas ainda não havia sido percebida a real importância da transfusão.

Segundo Hilgartner & McMillan:

“Subseqüentemente, Wright demonstrou que o tempo de coagulação era prolongado na hemofilia. Addis constatou que uma fração de globina preparada por diluição e acidificação do plasma normal podia corrigir o defeito da coagulação na hemofilia. Como Mellanby demonstrara que o fibrinogênio presente na fração globulínica do plasma hemofílico era normal, Addis admitiu uma

¹⁴ Outras referências foram encontradas em papiros egípcios relatos árabes, mas o caso dos judeus foi mais significativo e realmente acarretou medidas para ser evitado.

anormalidade da protrombina” (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.714).

Em 1855, foi realizada uma monografia sobre hemofilia e, em 1886 e 1890, respectivamente, foram descritos a primeira ocorrência de hemofilia em mulheres, a partir de um casamento entre primos de primeiro grau, e o envolvimento das articulações nessa doença.

No início do século XX, novas pesquisas estavam sendo realizadas acerca do assunto, iniciando os maiores progressos que posteriormente seriam relatados. Em 1901 foi escrita uma lista com tratamentos que eram utilizados na hemofilia, a qual recebeu novos itens por volta de 1926, onde se incluíam a transfusão sangüínea, injeção de citrato de sódio, cálcio, ou diferentes líquidos do corpo, ou até mesmo alguns líquidos da mãe. Nesse meio tempo, o trabalho escrito em 1855 sofreu aprimoramentos, por parte de Bullock e Fildes, e foi considerado de grande importância, por conter centenas de referências e casos relatados, além de árvores genealógicas, distinguindo casos de Hemofilia por sexo, sintomas e hereditariedade de diversos outros casos hemorrágicos que pareciam inexplicáveis (Associação Portuguesa dos Hemofílicos, 2005).

Somente no ano de 1934 Mac Farlane conseguiu controlar um sangramento superficial através da aplicação, no local, de veneno da cobra Russel. Após isso, em 1937, ainda houve grande contribuição por parte de Patek e Taylor, realizadores de trabalhos que constatavam ser a deficiência de uma fração globulínica, denominada fator anti-hemofílico, a causa da hemofilia.

Em 1940, o cirurgião Samuel Lane publicou um artigo onde relatava a bem-sucedida experiência de controle do sangramento pós-operatório de um hemofílico do tipo A grave através da transfusão de sangue. Quatro anos depois, haveria grande evolução, dada por Edwin Cohn, pois conseguiu fracionar o plasma em seus componentes e demonstrou que uma das frações possuía atividade anti-hemofílica (Vergara, 2005).

O ano de 1947 foi marcado por importantes acontecimentos na área da coagulação, desde as conclusões de Owren, que levaram à descoberta do fator V, até a hipótese lançada por Pavlovsky sobre a existência de mais de um fator anti-hemofílico, “ao constatar que o tempo de coagulação de um paciente hemofílico era transitoriamente corrigido por transfusão de sangue de outro hemofílico” (McMillan, *op. cit.*, p.630). Esse dado confirmou-se somente em 1952, por Schulman e Smith, nomeando tal distúrbio de deficiência do componente tromboplastínico do plasma, após observarem um distúrbio

hemorrágico em um menino inglês semelhante à hemofilia clássica, mas que não tinha seu plasma corrigido por administração de fator anti-hemofílico. Essa hemofilia recebeu o nome de Doença de Christmas por Biggs por ser o nome do primeiro paciente em que foram observadas essas alterações serem a deficiência de uma fração globulínica. No mesmo ano as pesquisas sobre o recém descoberto distúrbio avançaram com a participação de outros pacientes, além da família Christmas, tendo por conclusão final de Biggs o fato de ser transmitido como caráter recessivo ligado ao sexo (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, 734).

Enquanto ocorriam essas descobertas, von Willebrand, por volta de 1926, descreveu a doença que receberia seu nome em uma menina, sendo inicialmente designada pseudo-hemofilia, tendo como dados a herança autossômica, sangramento das mucosas e tempos de sangramento prolongado, com contagem plaquetária, tempo de coagulação e retração do coágulo normais. Até 1953, o conceito anterior que classificava esse distúrbio como uma alteração na função plaquetária e nos capilares sangüíneos era válido, sofrendo modificações após a observação de uma atividade plasmática reduzida do fator VIII em pacientes portadores da doença. A junção destas informações originou, em 1956, o termo hemofilia vascular para designá-la (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.731-732).

Ao final da década de 1950, percebeu-se que a infusão de plasma combinado que anteriormente corrigiria a deficiência de fator VIII em pacientes hemofílicos também foi útil a pacientes portadores da doença de von Willebrand, sendo o fator denominado fator de von Willebrand. “Tais estudos, bem como os outros, demonstraram também que, no paciente com doença de von Willebrand, a transfusão com plasma normal ou plasma de paciente com hemofilia clássica resulta em prolongamento ou elevação secundária da atividade do fator VIII” (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.731), ao passo que a transfusão de plasma sangüíneo de um portador de doença de von Willebrand para um portador de hemofilia clássica não é capaz de aumentar a atividade do fator VIII. Após isso, inúmeras diferenças puderam ser observadas entre esses distúrbios, dentre elas a forma de transmissão genética, o tempo de sangramento e a resposta diversificada dada à infusão de plasma normal.

Novas técnicas permitiram a descoberta e posterior confirmação da participação plaquetária nessa enfermidade, a partir da observação de uma deficiência na fase de adesão plaquetária, como também um aumento no tempo de sangramento. Essas técnicas, basicamente imunológicas, permitiram a conclusão de que certos pacientes possuíam um antígeno ausente relacionado ao fator VIII, detectado através da utilização de anticorpo

humano ou animal. Sendo assim, percebeu-se que a deficiência da atividade do fator VIII no plasma era característica da hemofilia clássica, enquanto deficiências relacionadas com a atividade e com o antígeno do fator VIII no plasma estavam direcionadas para a doença de von Willebrand (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.731-732).

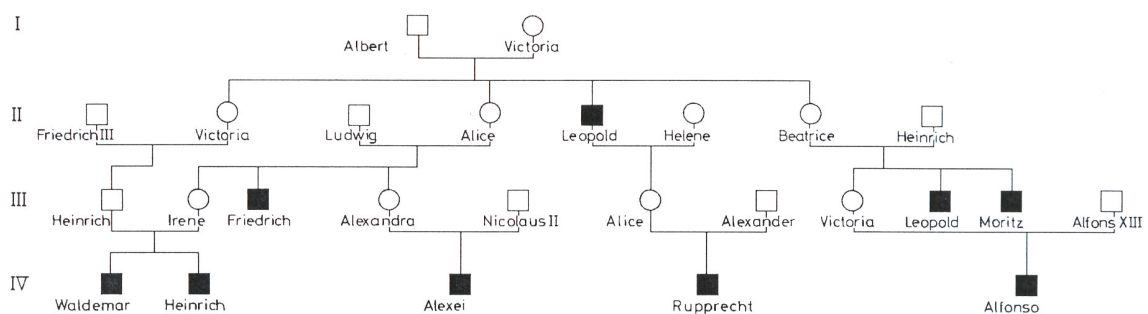
Ainda na década de 1950, as hemorragias passaram a ser mais controladas, principalmente após a utilização de plasma bovino e suíno como tratamento da hemofilia. No entanto, essas técnicas implicavam em reações alérgicas, necessitando de rápido aprimoramento, o que ocorreu por volta de 1957, quando surgiram os primeiros concentrados de fator VIII humano. Mais ainda haveria um avanço significativo na década seguinte.

Em 1965, a médica Judith Pool, após observar uma porção de plasma congelado em processo de degelo, verificou que pequeninos flocos estavam sedimentados no fundo da bolsa. Estes flocos foram analisados e detectou-se que continham uma grande quantidade de Fator VIII, recebendo o nome de crioprecipitado. Assim, surgiu uma técnica para isolar o Fator VIII do plasma humano, pois a partir deste, quando congelado, pode isolar-se o crioprecipitado/globulina anti-hemofílica. Outra descoberta evitou o fluxo constante de doentes aos bancos de sangue, pois permitia a auto-aplicação e a realização de atividades anteriormente restritas a pacientes hemofílicos: cientistas perceberam que poderiam transformar o fator VIII em pó, tornando-se então um concentrado de fator VIII humano, técnica utilizada até os dias atuais e que sofreu aperfeiçoamentos (APH, *op. cit.*).

3.1- Hemofilia “Real”

O caso mais famoso de hemofilia até então descrito é o da família real inglesa, que, com o passar dos séculos, espalhou-se pela Europa a partir dos vários casamentos que os descendentes da Rainha Vitória realizaram. Sem possuir casos anteriores de hemofilia na família, o que leva a acreditar que este fora um caso de mutação espontânea, a Rainha Vitória era portadora desse distúrbio e, após ter tido sete filhos, seu oitavo filho, Leopold, nascido em 1853, era hemofílico, embora isso não fosse sabido na época. Após 31 anos, ele faleceu em decorrência de uma hemorragia cerebral devido a uma queda. Duas das filhas da Rainha Vitória eram portadoras do gene defeituoso e foram responsáveis pela transmissão da doença a três de seus netos e seis bisnetos (APH, *op. cit.*).

Uma das filhas portadoras do gene para a hemofilia chamava-se Alice do Reino Unido, a qual teve uma filha, Alexandra, também portadora, que posteriormente se casaria com o czar russo Nicolau Romanov. O único homem gerado por essa união era hemofílico, Alexis, sofrendo da forma grave da doença; os freqüentes sangramentos nas articulações eram responsáveis pela leve flexão vista na perna esquerda do príncipe. Essa doença pode ter sido uma das principais causas da queda do czar, uma vez que Grigori Rasputin, considerado por muitos um homem santo, conseguia diminuir os sangramentos constantes que ocorriam com Alexis, e foi este mesmo homem que, ao ganhar confiança do czar e sua esposa, passou a influenciar indiretamente no governo russo, inclusive durante a Primeira Guerra Mundial (APH, 2005). Esse fato gerou inúmeras insatisfações por parte da corte, pois eram contra a intervenção de um dito bruxo nas decisões de um país. Rasputin foi assassinado por seus inimigos, deixando uma marca indelével na monarquia russa que, em pouco tempo, seria totalmente exterminada pelos heróis da Revolução Russa de 1917.



Árvore genealógica da Família Real Inglesa.

3.2 - Genética

A hemofilia é uma doença autossômica recessiva associada ao cromossomo X, ou seja, é transmitida de forma hereditária a partir de mutações que ocorrem espontaneamente ou não em determinados genes do cromossomo X, apenas se manifestando caso não haja um alelo dominante sobre ele. Essas modificações acarretam uma deficiência na produção ou na função dos fatores VIII e IX da coagulação, alterando o mecanismo hemostático.

O gene do fator VIII localiza-se próximo à extremidade do braço longo do cromossomo X (banda Xq28). Acredita-se que aproximadamente um terço dos casos de hemofilia clássica sejam gerados por alguma modificação nova, isto é, que não havia sido encontrada na mãe do paciente. Esse fato pode ocorrer devido à “organização peculiar do gene do fator VIII, que contém cópias de um outro gene (gene A) no seu interior e na sua

proximidade, e à presença de ilhas que facilitam a ocorrência de substituição dos pares de bases” (Franco, *op. cit.*, p.798). A taxa de mutação deste gene é bastante elevada ao serem considerados o seu tamanho, a presença de hot spots, ou seja, regiões onde há maior facilidade de ocorrer uma mutação, e a facilidade de aparecerem inversões, de tal forma que a mutação consegue persistir por inúmeras gerações. São encontradas mutações missense – a mutação leva à produção de uma proteína com alteração em um determinado aminoácido -, pequenas deleções e inserções, que ocorrem quando há diminuição ou aumento de nucleotídeos em determinada região do cromossomo, dentre outras (Franco, *op. cit.*, p.799).

O gene do fator IX encontra-se também do braço longo do cromossomo X, porém na banda q26. Segundo Franco (*op. cit.*, p.801), “as bases moleculares da hemofilia B são altamente heterogêneas, tendo sido descrito um grande número de mutações, incluindo alterações gênicas grosseiras, pequenas deleções ou inserções, mutações afetando sítios de splicing, mutações missense e nonsense e mutações na região promotora”. As primeiras são observadas em apenas 5% dos casos e as últimas ocorrem em um caso raro de hemofilia B, na qual há um aumento dos níveis de fator IX e diminuição da hemorragia durante o período da puberdade, devido à alteração na transcrição do gene do fator IX. Ao contrário da hemofilia A, possui uma taxa de mutação muito baixa.

A hemofilia C manifesta-se pela deficiência do fator XI da coagulação, sendo raríssima e não possuindo qualquer ligação com os cromossomos sexuais. Diferentemente das outras hemofilias, que não possuem restrições a etnias, mesmo sendo menos comuns em africanos e chineses, a hemofilia C acomete principalmente os judeus (Villaça *et al.*, 2001, p.804).

Tal doença afeta basicamente indivíduos do sexo masculino, por conterem somente um cromossomo X e, estando esse com uma mutação no gene para a hemofilia, significa que é um indivíduo hemofílico. Com as mulheres o mesmo não ocorre, pois existem dois cromossomos X e a mutação ocorrida em um deles é facilmente substituída pela normalidade do outro cromossomo X, transformando a mulher em portadora da hemofilia, não apresentando sintomas dessa doença (Motta, 2005).

O gene determinante da hemofilia é representado pela letra h. Quando a mulher é homocigota existem dois casos: com coagulação normal possui genótipo $X^H X^H$, no qual os dois alelos são dominantes, ao passo que a hemofilia determina um genótipo $X^h X^h$, com ambos os alelos recessivos. Caso ela seja heterocigota, percebe-se a presença de um alelo recessivo e um alelo dominante ($X^H X^h$), demonstrando ser uma portadora do gene da

hemofilia. Com relação ao homem, somente podem existir duas possibilidades, ou ele é um indivíduo normal, com genótipo X^HY , ou é um indivíduo hemofílico, possuidor do genótipo X^hY . O indivíduo do sexo masculino é considerado hemizigoto por ser um diplóide portador de apenas um alelo de determinado gene (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.715).

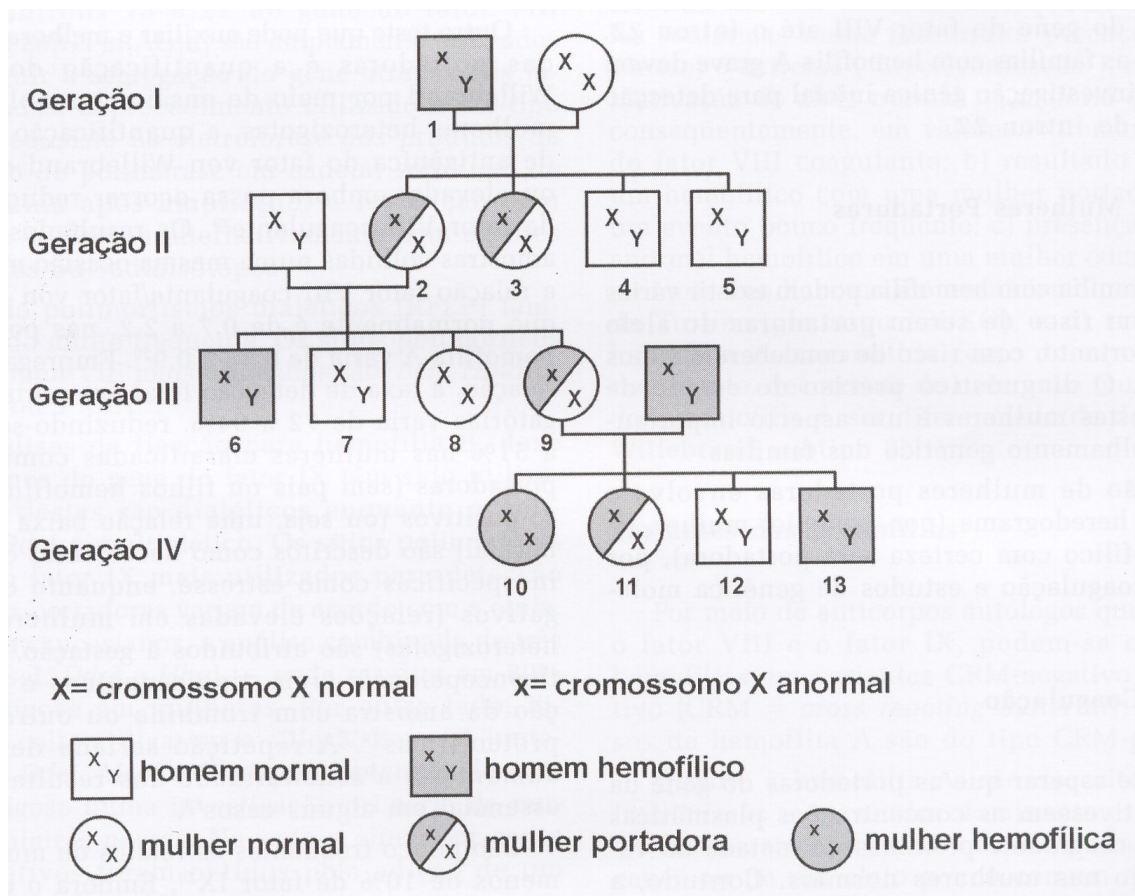
A partir dos diversos cruzamentos ocorridos, durante o momento da concepção, os cromossomos da mãe e do pai unem-se podendo determinar diferentes genótipos: o cruzamento de uma mulher normal com um homem hemofílico gera os genótipos X^HX^h , X^HX^h , X^HY e X^hY , ou seja, todas as suas filhas serão heterozigotas e, portanto, portadoras de hemofilia, transmitindo-a para a geração seguinte, ao passo que seus filhos homens serão normais; o cruzamento de uma mulher portadora de hemofilia e um homem normal produz os genótipos X^HX^H , X^HX^h , X^HY e X^hY , significando que 50% de suas filhas serão normais e 50% serão portadoras de hemofilia e, com os filhos homens, também haverá 50% de probabilidade de ser um indivíduo normal e 50% de ser hemofílico; por último e de forma mais rara, pois pode ocorrer morte intra-uterina, há o cruzamento entre uma mulher portadora de hemofilia e um homem hemofílico, resultando nos genótipos X^HX^h , X^hX^h , X^HY e X^hY , isto é, 50% das suas filhas serão portadoras de hemofilia e o restante será hemofílica¹⁵, da mesma forma que 50% dos filhos homens serão normais e os outros 50% possuirão hemofilia (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.805).

Além desse cruzamento atípico, a presença de hemofilia em mulheres pode ocorrer por outros três fatores: a presença de somente um alelo anormal hemofílico em uma mulher com somente um cromossomo X, como é o caso da síndrome de Turner; a inativação aleatória extrema de um dos cromossomos de mulheres heterozigotas, resultando na inativação do alelo normal e a presença de níveis baixos de fator VIII coagulante; e, por fim, casos raros em que a hemofilia pode ser transmitida como uma herança autossômica dominante, decorrente de uma nova mutação (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.807).

O gene do fator de von Willebrand está localizado no braço curto do cromossomo 12, mas foi encontrado uma seqüência com 97% de homologia com ele no cromossomo 22, representado por uma duplicação de DNA não funcionante. A doença que é caracterizada pela transmissão autossômica dominante de uma mutação ocorrida nesse gene recebe o

¹⁵ Deve-se destacar que, ao contrário do que se pensava anteriormente, as mulheres hemofílicas, mesmo sendo uma situação muito rara de ocorrer, não morrem necessariamente ao atingirem a puberdade e começarem o período menstrual, pois a menstruação é decorrente de uma descamação fisiológica do endométrio, sendo regulada pelo organismo, e não uma hemorragia.

nome de Doença de von Willebrand e é o distúrbio hereditário mais comum da função plaquetária (D'Amico & Villaça, 2001, p. 820).



Herança de hemofilia A e hemofilia B: ambas as doenças apresentam o mesmo padrão de herança porque tanto o gene do fator VIII como o do fator IX estão no braço longo do cromossomo X. Como a mulher tem dois cromossomos X, ela pode ser normal (dois alelos normais), portadora (ou seja, heterozigota) ou muito raramente hemofílica (quando é homozigota). O homem, tendo apenas um cromossomo X, somente pode ser normal ou hemofílico. O homem hemofílico transmite o gene anormal para todas as suas filhas, enquanto a mulher portadora transmite o cromossomo afetado para metade de seus descendentes, ou seja, metade das filhas do sexo feminino será portadora, enquanto metade dos filhos do sexo masculino será hemofílico.

3.3 - Classificação e Sintomas

Além da diferenciação entre Hemofilia A, mais freqüente no mundo, estando presente em aproximadamente 80 a 85% dos hemofílicos, Hemofilia B, acometendo de 15 a 20% dos hemofílicos de todo o mundo, Hemofilia C, e Doença de von Willebrand, pode-se classificar a hemofilia de acordo com a intensidade da doença, a quantidade de fator

coagulante circulante no sangue, os principais sintomas e as formas de tratamento e outros aspectos.

A principal característica dessa doença é o aparecimento de sangramentos após pequenos traumatismos ou mesmo espontaneamente. Isso ocorre devido à quantidade de fator da coagulação presente no sangue. Quando a concentração encontra-se inferior a 1%, diz-se que é uma hemofilia grave ou severa e o sangramento pode ocorrer em qualquer parte do organismo. Esses eventos hemorrágicos tornam-se constantes, podendo manifestar-se de duas a quatro vezes em um mês (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.808), sob a forma de hemartroses graves, hematomas, equimoses, hematúria e, até mesmo, sangramentos ligados ao sistema nervoso, podendo inúmeras vezes comprometer órgãos vitais.

A hemofilia é dita moderada quando as quantidades de fator coagulante encontram-se entre 1 a 5% no sangue, ocorrendo episódios mais leves de sangramento, mas não de forma espontânea. As crises hemorrágicas podem ocorrer após traumatismos ou procedimentos cirúrgicos. O tratamento de forma adequada evita o prolongamento do sangramento para que este não se torne mais grave do que realmente é. Por último, a concentração dos fatores entre 5 e 25% de fator coagulante no sangue determina uma hemofilia do tipo leve, caracterizada pela presença de sangramentos apenas após grandes traumas, geralmente sendo de difícil diagnóstico, o qual pode ser dado muitas vezes durante a fase adulta do paciente, ou durante a realização de cirurgias; neste tipo as hemorragias espontâneas são decorrentes de um tratamento mal realizado em alguma parte do corpo, geralmente articulações, onde já havia sofrido algum trauma (Motta, *op. cit.*). Na tabela abaixo podem ser verificados os dados anteriores.

Tabela 73.1
Classificação Clínica das Hemofilias Segundo a Gravidade das Manifestações Hemorrágicas e Frequência de Cada uma das Formas

Classificação	Nível de fator VIII ou IX	Características clínicas	Frequência	
			Hemofilia A	Hemofilia B
Grave	= 1% (= 0,01U/ml)	Sangramentos espontâneos desde a infância Hemartroses e outras manifestações hemorrágicas espontâneas freqüentes	70%	50%
Moderada	1-5% (0,01-0,05U/ml)	Hemorragia secundária a trauma pequeno ou cirurgia Hemartroses espontâneas	15%	30%
Leve	5-30% (0,05-0,30U/ml)	Hemorragias secundárias a traumatismos e cirurgias Raramente sangramento espontâneo	15%	20%

Durante o período neonatal não há crises hemorrágicas, ao menos que o neonato haja sido submetido a alguma cirurgia ou traumatismo. Os sangramentos iniciam-se até os dezoito meses, geralmente tornando-se mais presente quando os primeiros dentes estão crescendo e durante o aprendizado do movimento, pois engatinhar e andar implica em muitas quedas e possíveis sangramentos, formando principalmente hematomas, também podendo ser causados por injeções intramusculares, equimoses e hemartroses (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.808). Em raras situações podem ocorrer sangramentos intracranianos a partir de pequenos traumas na região crânio-encefálica, levando a uma lesão cerebral e possível morte.

De acordo com Villaça *et al.*:

“As hemartroses constituem as manifestações hemorrágicas mais comuns dos hemofílicos, principalmente na forma grave. As articulações mais acometidas são os joelhos, cotovelos, tornozelos, ombros, coxo-femorais¹⁶ e punhos. Nos pacientes com hemofilia grave, as hemartroses, usualmente, começam aos dois ou três anos de idade, de maneira que a ausência de história de sangramentos intra-articulares, num adulto hemofílico, sugere o diagnóstico de uma forma leve” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.809).

O sangramento dessas regiões pode ocorrer de forma espontânea, principalmente em pacientes hemofílicos da forma grave, tornando-se, em muitos casos, constante em função das alterações na membrana que recobre as articulações – membrana sinovial – e da própria instabilidade da articulação atingida, podendo levar a situações crônicas, como é o caso da artropatia hemofílica crônica, caracterizada pela perda da movimentação articular e grande lesão da mesma, que se torna flexionada e atrofiada, devido a não utilização.

A hemartrose é percebida inicialmente pela presença de aura, representada pela sensação de calor e dormência na região afetada, durando aproximadamente duas horas. Esse episódio é seguido por pequeno desconforto na área e dificuldade na movimentação que, com o passar das horas, evolui para dor mais intensa, aumento do volume e da temperatura da articulação. Tal situação pode ser aprimorada pela reposição do fator de coagulação ausente, considerado o melhor tratamento para portadores de hemofilia, o qual será explicado no capítulo seguinte. Caso o sangramento atinja a região intra-articular deve-se atentar que a pressão na região sinovial aumenta decorrente da presença de sangue no interior das articulações. A membrana sinovial torna-se mais vascularizada e espessada, além de formar vilosidades que posteriormente gerarão novos sangramentos, resultando em

¹⁶ Quadris.

uma região permanentemente dolorida e edemaciada, mesmo que não haja crise hemorrágica (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.809-810).

Os sangramentos que ocorrem nos músculos e tecidos subcutâneos são denominados hematomas e são a segunda causa mais comum de sangramento em pacientes hemofílicos graves, atingindo principalmente os membros inferiores. Em pacientes hemofílicos leves e moderados não representam grande significado clínico, ao contrário de pacientes graves, pois podem acarretar, além da dor, febre, leucocitose e hiperbilirrubinemia (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.717). A demora no tratamento pode implicar em danos maiores, como por exemplo, obstrução das vias aéreas a partir de sangramento localizado na língua, pescoço ou garganta; paralisia dos nervos mediano ou ulnar ou contratura isquêmica da mão, em caso de hematomas musculares no antebraço; paralisia no nervo fibular, devido à sangramentos na panturrilha; e comprometimento do nervo femoral no hematoma ocorrido no músculo ileopsoas, localizado entre a pelve, na face posterior, e a fáscia muscular, na face anterior, causando dor intensa, diminuição da força muscular e paralisia dos músculos flexores da coxa (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.810-811).

Em algumas situações o hematoma muscular pode não ser totalmente reabsorvido pelo organismo, transformando-se em uma lesão cística encapsulada, cujo nome é pseudotumor hemofílico. Existem três tipos de pseudotumor, o primeiro é representado por um cisto simples localizado dentro da fáscia muscular, sem comprometer a parte óssea; o segundo inicia-se como um cisto localizado em tecido mole como, por exemplo, o tendão, ligado ao perióstio e interagindo com este, resultando na reabsorção óssea e na formação do cisto, que pode ter seu tamanho aumentado, além de ocasionar fraturas ao paciente; por último, o terceiro causa destruição muscular e óssea a partir de uma hemorragia no próprio perióstio. Esses pseudotumores possuem crescimento lento e geralmente não causam dor, exceção observada apenas quando comprimem e destroem músculos, ossos e nervos. Não devem ser aspirados para ser feito o diagnóstico, pois as punções poderiam ocasionar sangramentos. Embora seja raro em crianças, estão presentes principalmente nos ossos das mãos e dos pés, enquanto nos adultos são encontrados na pelve, no fêmur e na tíbia (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.811-812).

A hematúria, presença de sangue na urina, está presente em aproximadamente 70% dos pacientes hemofílicos, basicamente após os doze anos de idade, mas já foi observado em meninos com mais de quatro anos de idade que possuíam hemofilia grave (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.716-717). Nesse tipo de hemofilia, pode haver sangramento sem

que seja necessário um traumatismo, o que não acontece nos tipos leve e moderado. Na maior parte dos casos, a hematúria não vem acompanhada de episódios de dor, devendo-se observar a presença de coágulos na pelve renal ou no ureter, pois podem causar obstrução e manifestar dor nos pacientes. Mesmo o tratamento de reposição de fatores da coagulação não é capaz de impedir alguns casos, nos quais há constante liberação sangüínea, que pode durar até semanas e, se isto for freqüente, acarreta em um comprometimento da função renal.

O sangramento nas mucosas gastrintestinal, bucal e nasal é freqüente, principalmente em pacientes hemofílicos graves. No trato gastrintestinal, pode persistir devido à presença de lesões do estômago, como úlceras ou gastrites, além de gerar quadro de obstrução intestinal. O sangramento bucal é bastante comum em crianças, através de pequenos traumas que podem lacerar o frênulo, a língua ou a gengiva, não necessitando de reposição de fatores da coagulação para cicatrizar-se. As epistaxes¹⁷ são comuns nos hemofílicos graves, contudo podem ocorrer também em hemofílicos leves, causado por algum traumatismo local. Pode ser de difícil tratamento, requerendo a reposição de fatores caso o tecido nasal encontre-se bastante necrosado em função dos inúmeros episódios de sangramento (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.719).

Pequenos traumatismos superficiais geralmente não apresentam grandes complicações. Apresentam-se sob a forma de manchas na pele, denominadas equimoses (Motta, *op. cit.*). Ao penetrarem nos tecidos, não sangram inicialmente devido à hemostasia primária, que é normal, mas deve haver o tratamento de reposição de fatores para que evite o sangramento posterior (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.812).

Os sangramentos relacionados à área neurológica devem ser diagnosticados rapidamente, pois podem afetar o sistema nervoso central, a medula espinhal e tecidos adjacentes, chegando a comprometer nervos periféricos. A análise do local do traumatismo é fundamental para determinar as medidas necessárias para o tratamento, de forma a não comprometer a saúde do paciente.

Segundo Hilgartner & McMillan (*op. cit.*, p.718), “o sangramento intracraniano é ainda considerado a principal causa de morte nos hemofílicos e pode representar um grande obstáculo, impedindo que o paciente com hemofilia grave tenha um a expectativa de vida normal”. Ao contrário de pacientes graves, os hemofílicos leves raramente possuem hemorragias no sistema nervoso central, além de ocorrer mais freqüentemente e

¹⁷ Sangramento nasal.

hemofílicos que carecem de fator IX da coagulação. Podem ocorrer de forma espontânea, devendo ser analisada a possibilidade de uma doença cerebrovascular adquirida ou congênita ou, até mesmo, alguma neoplasia, ou após traumatismos, principalmente nas regiões subdural, epidural, intracerebral e subaracnóide¹⁸. Deve-se suspeitar de hemorragias nesta região quando ocorrem cefaléias intermitentes e não habituais, requerendo rápida reposição de fatores, além de avaliação com uma tomografia computadorizada. A punção lombar só é permitida após a reposição de, no mínimo, 50% de fator da coagulação (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.812).

Somente em alguns casos são percebidas hemorragias intra-espinhais, tendo como principais sintomas dor nas costas e pescoço, podendo resultar paraplegia. Assim sendo, os nervos periféricos mais atingidos são o femoral e o ulnar, perfazendo grande parte das hemorragias interligadas ao sistema nervoso. São causadas por compressões externas ou trações de um nervo (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.812).

Tabela 73.3
Níveis Hemostáticos de Fator VIII e Fator IX para Diferentes Condições Hemorrágicas

Local da hemorragia	Nível de fator (UI/dl)	Dose inicial (UI/kg)		Frequência das doses (horas)	Duração (dias)
		FVIII	FIX		
Hemartrose	30-50	15-25	30-50	24	1-2
Hematoma muscular	30-50	15-25	30-50	24	1-2
Epistaxe	30-50	15-25	30-50	24	Até resolução
Hemorragia digestiva	50	15-25	30-50	12-24	Até resolução
Língua ou retrofaringe	80-100	40-50	80-100	12	7-10
Hemorragia no SNC	80-100	40-50	80-100	12	7-10
Hematúria	30-50	15-25	30-50	24	Até resolução
Pequenas hemorragias	20-30	10-15	20-30	24	Até resolução

¹⁸ Hematoma subdural ocorre após acúmulo de sangue sob a dura-máter (meninge mais externa, associada ao crânio); hematoma epidural é o acúmulo de sangue entre o crânio e a dura-máter; hematoma intracerebral ocorre dentro do cérebro; e hematoma subaracnóide apresenta-se sob a aracnóide (meninge intermediária, localizada entre a pia-máter – meninge intimamente ligada ao cérebro – e a dura-máter).

CAPÍTULO IV

DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA HEMOFILIA

Os dados estatísticos existentes atualmente não se encontram disponíveis à população, impossibilitando a determinação do número exato de hemofílicos no mundo, mas se estima que aproximadamente 400.000 pessoas sejam atingidas por essa doença, na qual cerca de 9.000 hemofílicos são brasileiros. Tal incidência pode ser analisada a partir da proporção mundial definida para a hemofilia: a hemofilia A possui uma variação de 1/10.000 a 1/20.000 indivíduos, enquanto a hemofilia B atinge de 1/30.000 a 1/50.000 (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.804).

Mesmo este número sendo razoavelmente pequeno em consideração a outras enfermidades, como a AIDS e o Câncer, por exemplo, ainda há muito a ser feito para melhorar o atendimento ao paciente e o diagnóstico, além da produção de hemoderivados e universalização destes. Inicialmente, deve-se diagnosticar clinicamente e laboratorialmente o paciente hemofílico e as portadoras, para sejam encaminhados a hemocentros especializados no tratamento e cuidado da Hemofilia.

4.1 - Diagnóstico Clínico e Exame Físico

O diagnóstico da hemofilia constitui-se por três avaliações fundamentais, o diagnóstico clínico, o exame físico e os exames laboratoriais. Primeiramente, deve ser realizada a anamnese do paciente, isto é, o médico responsável por seu atendimento fará perguntas a fim de levantar o histórico do paciente, possibilitando simular prováveis causas dos sintomas apresentados (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.812). Esta etapa é a mais importante de todo o processo investigativo da doença, pois o médico dispõe de tempo suficiente para gerar um bom diagnóstico e conduzir o paciente ao melhor tratamento. Sendo assim, se feito de forma correta, é responsável pela liberação de cerca de 85% do diagnóstico na área clínica, e os outros 15% são divididos entre o exame físico e as avaliações laboratoriais.

As perguntas feitas pelo profissional devem ser de três tipos: abertas, no sentido de ampliar a gama de respostas dadas pelo paciente, fazendo com que ele se sinta à vontade para responder as questões posteriores; focadas, continuando a lógica da liberdade argumentativa do paciente, mas agora acerca de um tema específico; e fechadas, que

restringem as respostas do paciente a real importância do problema e o motivo da consulta. Relacionando estes dados com a hemofilia, percebe-se que alguns pontos não poderão ser esquecidos para obtenção do diagnóstico clínico, como um pequeno resumo do problema hemorrágico do paciente, observando-se o período em que se tornou evidente, onde ocorreram e quais foram os primeiros sintomas, as possíveis causas da doença, o tempo de duração e a frequência dos episódios hemorrágicos, a presença dessas mesmas características em outros componentes da mesma família etc.

Após a devida coleta de dados e análise dos mesmos durante anos, um quadro clínico pode ser estruturado, permitindo o diagnóstico clínico do paciente. A presença de episódios hemorrágicos na família somente em indivíduos do sexo masculino pode ser de fundamental importância para diagnosticar a gravidade da doença (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.812). A hemofilia leve é de difícil diagnóstico por não possuir muitos sintomas aparentes, tornando-se mais fácil diagnosticar a doença caso a intensidade da mesma aumente, pois em sua forma grave são percebidos sintomas geralmente desde a infância, como comprometimento intra-articular, hematomas pós-traumáticos e musculares, sangramentos após procedimentos cirúrgicos ou extrações dentárias, dentre outros.

Depois dos procedimentos clínicos, realiza-se o exame físico no paciente, para que sejam constatados alguns sintomas apresentados pelo paciente, como a presença de hematomas profundos, muito característicos de doenças que atingem o sistema hemostático, como é o caso da hemofilia. As hemartroses e as deformidades articulares crônicas, como a presença da Artropatia Hemofílica Crônica, são bastante significativas para observação e confirmação dos dados clínicos. A partir de então, faz-se necessário a utilização de provas laboratoriais que comprovem os resultados anteriormente obtidos.

4.2- Diagnóstico Laboratorial

4.2.1 - Métodos de detecção de Mulheres Portadoras

Para que seja detectada a anomalia genética que ocorre na hemofilia deve-se obter a história clínica familiar. O médico elabora um heredograma questionando sobre problemas médicos que afetam ou afetaram membros da família. Para uma avaliação precisa dos riscos genéticos, são necessárias informações de aproximadamente três gerações. É feito o registro do estado de saúde ou da causa da morte de todos os parentes

de primeiro grau (pais, irmãos, filhos) e de segundo grau (tios, avós, primos). Deve-se salientar a importância da origem étnica de cada componente da árvore genealógica e do casamento ocorrido entre parentes de mesmo sangue.

Após essa pequena coleta de dados, deve-se estudar a coagulação e a genética molecular para detectar as prováveis portadoras de hemofilia. Os estudos da coagulação permitem afirmar que, mesmo sendo portadoras da hemofilia A e acreditando-se que deveriam ter o nível de fator VIII pela metade, o alelo normal dessas mulheres pode substituir com eficácia o gene anormal, fenômeno este explicado pela hipótese de Lyon, a qual afirma que nos seres humanos que possuem mais de dois cromossomos X, um deles permanece no estado eucromático e os outros se tornam inativos (Lima *et al.*, 2001, p.60). Devido a essa inativação, o nível do fator citado encontra-se nos valores normais ou pode ultrapassá-los, sendo este último um grande indicador de portadoras de hemofilia; mas não deve ser o único, pois em algumas situações como gravidez, uso de anticoncepcionais orais, prática de exercícios físicos ou, até mesmo, outras doenças, esse valor pode estar aumentado, da mesma forma que é diminuído fisiologicamente em indivíduos de sangue O. Como a lyonização é um evento aleatório, a inativação do alelo normal traz como consequência a ativação, por toda a vida da mulher, do cromossomo que possui o gene hemofílico, caracterizando-a como uma portadora hemofílica, apresentando aproximadamente 50% de fator VIII em seu plasma, o que requer os mesmos cuidados que um paciente hemofílico da forma leve (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.514-515).

Existem métodos mais precisos que visam “quantificar os valores plasmáticos do fator VIII coagulante e a sua atividade antigênica” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.806). Se houver um defeito molecular do fator VIII, a proteína será codificada normalmente, contudo a sua atividade estará reduzida à metade, em virtude da presença de um alelo normal. A quantificação do fator von Willebrand também pode ser muito útil para detectar mulheres portadoras, a partir de testes imunológicos. As mulheres heterozigotas geralmente possuem atividade antigênica normal ou elevada do fator von Willebrand, mas o fator VIII encontra-se reduzido. Segundo Villaça *et al.*:

“a relação fator VIII coagulante/fator von Willebrand, que normalmente é de 0,7 a 2,2, nas portadoras de hemofilia A varia de 0,18 a 0,9. Empregando-se esta relação, a taxa de detecção total nas portadoras obrigatórias varia de 72 a 94%, reduzindo-se para 48% a 51% nas mulheres classificadas como possíveis portadoras (sem pais ou filhos hemofílicos A)” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.806).

Caso os valores encontrados estejam abaixo do normal em mulheres saudáveis, diz-se que o resultado foi falso-positivo, tendo como principal causa o estresse, assim como um resultado falso-negativo, ou seja, valores elevados em pacientes portadoras, estão relacionados à gravidez, ao uso de anticoncepcionais orais, ao tipo sanguíneo e à contaminação da amostra por enzimas que atuem no mecanismo hemostático (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.806).

Os métodos de diagnóstico de portadoras de hemofilia B seguem os mesmos processos que na hemofilia A, com apenas um diferencial: os testes de coagulação são bastante sensíveis, detectando níveis baixos do fator IX, de até 10%, implicando em raros casos de sangramento. As técnicas para medir a atividade antigênica desse fator a partir da relação existente entre fator IX coagulante/atividade antigênica do fator IX não são tão eficientes, revelando menores taxas de detecção de hemofilia B comparadas às da hemofilia A.

Por sua vez, a biologia molecular é o método mais seguro e preciso de detecção de portadoras, embora não seja o mais utilizado, devido a certos critérios que, além do custo, devem ser considerados para a sua realização, como a causa da doença ser altamente debilitante ou letal, o possível tratamento ao nascimento, entre outros. Sendo assim, após a análise destes fatores, dividem-se os métodos de detecção em dois grupos. O primeiro baseia-se na análise de ligação a partir da utilização de dez seqüências polimórficas de DNA do gene do fator VIII, mas não é considerado o melhor método por necessitar da história familiar para dar o diagnóstico certo, ou seja, “as mulheres só podem ser excluídas de serem portadoras somente nos casos onde não herdaram o alelo em fase com a hemofilia em suas famílias” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.807). O segundo analisa diretamente a mutação ocorrida no gene da hemofilia, sendo mais eficaz que o primeiro por não depender da presença de histórico familiar da doença.

4.2.2 - Exames Laboratoriais

O hemograma é um dos testes laboratoriais mais utilizados para o diagnóstico de inúmeras doenças, pois seus dados gerais permitem uma avaliação extensa da condição clínica do paciente, isto é, não possuem sensibilidade suficiente para indicar determinados estados patogênicos, mas oferece informações suficientes para a descoberta deste. Esse exame analisa três linhagens celulares, sendo composto, portanto do eritrograma, responsável por indicar o número de eritrócitos por volume total de sangue, a dosagem de

hemoglobina presente nos eritrócitos, a quantidade de células vermelhas encontradas no sangue (hematócrito), e os índices hematimétricos, diferenciados em volume corpuscular médio - resultado da relação existente entre o hematócrito e o número de eritrócitos -, hemoglobina corpuscular média - valor encontrado da relação entre a quantidade hemoglobina e o número de eritrócitos -, e concentração de hemoglobina corpuscular média - resultante da relação entre a concentração de hemoglobina no sangue e o valor do hematócrito -; do leucograma, avaliando-se inicialmente a contagem global de leucócitos e, posteriormente, sendo classificados especificamente de acordo com sua linhagem em neutrófilos ou segmentados, basófilos, eosinófilos, bastonetes, mielócitos, metamielócitos, linfócitos e monócitos; e, por último, do plaquetograma, no qual as plaquetas são analisadas quantitativamente, a fim de se obter o número de tais células por volume de sangue, e qualitativamente, avaliando-se as características das mesmas a partir da observação microscópica na forma de esfregaço sangüíneo total após coloração. Nos pacientes hemofílicos, esses dados costumam estar dentro dos valores normais, podendo apresentar anemia, cujo grau pode revelar a duração e a intensidade do sangramento, ou aumento do número de plaquetas em caso de sangramentos mais severos (Diagnósticos da América, 2005).

Existem testes laboratoriais específicos que utilizam o tempo consumido na coagulação para medir as diversas etapas do mecanismo hemostático, através da premissa de que o tempo é inversamente proporcional à velocidade de formação do coágulo, cujo objetivo demonstra-se na dosagem dos componentes para obter o controle da terapêutica com drogas anticoagulantes ou “como um meio de inferir concentrações – por exemplo, na triagem ou estimativa aproximada do grau de carência de algum fator específico, como na hemofilia” (Terra, 2001, p.19). Os testes bastante utilizados no passado foram sendo substituídos, atualmente, com o advento dos novos métodos de pesquisa, por avaliações mais sensíveis e específicas, pois são realizados com plasma separado do sangue total, mas ainda são muitas vezes utilizados, apenas como fonte de confirmação, não devendo ser, portanto, a única forma de diagnóstico para determinada alteração hemostática.

A Prova do Laço e o Teste de Agregação Plaquetária não possuem correlação com a hemofilia, pois ambas medem a hemostasia primária, onde ainda não há interferência dos fatores da coagulação para formação de um coágulo de fibrina. O primeiro consiste na aplicação de forte pressão arterial na parte superior do braço, durante cinco minutos, gerando grande quantidade de petéquias – lesões puntiformes presentes nas mucosas e na

pele - em caso de positividade. O segundo mede a capacidade que as plaquetas possuem de se agregar *in vitro*, a partir do contato destas com substâncias agregantes.

O Tempo de Sangramento consiste na medida da atividade plaquetária *in vivo*, a partir da realização de uma pequena incisão no antebraço, no lobo da orelha ou na ponta de um dedo, para verificar o tempo necessário para a cessação da hemorragia. Deve-se considerar sua grande importância na hemostasia primária, pois se encontra prolongado¹⁹ no caso de trombocitopenias²⁰, ou quando da utilização de anticoagulantes orais, como é o caso do ácido acetilsalicílico, pois este interfere na liberação de adenosina difosfato proveniente das plaquetas, alterando a adesão e coagulação das mesmas. Pacientes hemofílicos apresentam Tempo de Sangramento normal, em virtude da relação inexistente deste com a formação de fibrina, onde há participação dos fatores da coagulação. Uma das hipóteses aceitas para afirmar este dado é a presença de condições controladas do sangramento, já que o mesmo é realizado dentro de um laboratório, com pequenas dimensões, o que implica na formação de pouca quantidade de trombina, através de ativação direta do fator X, não passando pela via intrínseca, onde estão presentes os fatores ausentes nos hemofílicos (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.479).

Para medir a retração observada no coágulo após sua concretização, ao término da coagulação sangüínea, quando tem início um processo de descolamento da parede vascular e separação com o soro, utiliza-se o exame denominado Retração do Coágulo, o qual depende da quantidade de plaquetas presentes no sangue. Após cerca de duas horas, pode-se observar o princípio de uma retração, cujo término ocorre após vinte e quatro horas, obtendo-se um coágulo retrátil e livre de soro. Mais uma vez, nos pacientes hemofílicos não são descritas alterações com relação a este teste laboratorial.

O Tempo de Coagulação é um antigo método laboratorial com relativa eficiência para pacientes hemofílicos, mas que hoje não é mais considerado um exame de triagem. Para realizá-lo, deve ser colhido sangue a partir da punção de uma veia superficial, o qual será colocado em tubo de ensaio sem anticoagulante, medindo-se o tempo até a formação do coágulo, que deve ser de aproximadamente seis a dez minutos. Este teste laboratorial *in vitro* pode sofrer alterações do próprio tubo de ensaio em que foi depositado o sangue ou, até mesmo, durante a coleta. A ativação da via intrínseca, medida por este teste, ocorre através do contato do sangue com a parede do tubo de ensaio, com pouca ajuda do fosfolípido plaquetário e sem ajuda de material do tecido (Terra, *op. cit.*, p.23). Dessa

¹⁹ O normal varia de um a sete minutos.

²⁰ Diminuição da quantidade de plaquetas no sangue.

forma, a ausência da lesão plaquetária impede a ativação da via extrínseca e, por isso, a formação do coágulo ocorre mais lentamente. A colheita do material a partir de sangue capilar poderia ser afetada pela tromboplastina liberada pela lesão tecidual, tornando o teste alterado, pois a formação do coágulo seria mais rápida. Esse teste é indicado para investigar qualquer tendência a um episódio hemorrágico ou, então, antes de alguma situação em que seja necessária a intervenção cirúrgica. No caso de pacientes hemofílicos da forma grave, seu resultado é positivo, assim como para qualquer portador de doenças relacionadas à ausência de algum dos fatores da coagulação. Os hemofílicos leves e moderados nem sempre são indicados por esse método. Para que seja averiguado o fator ausente, faz-se mister a utilização de testes mais específicos.

Os testes laboratoriais utilizados atualmente para determinar a deficiência dos fatores da coagulação não possuem mais a interferência de eritrócitos ou plaquetas, pois são medidos com base na recalcificação do plasma, ou seja, o tempo de coagulação é medido a través da junção entre um anticoagulante e o sangue total, resultando em valores mais sensíveis e específicos que o Tempo de Coagulação Clássico. Os anticoagulantes mais empregados nessa técnica são o citrato de sódio, o oxalato de sódio e o Ácido etilenodiaminotetracético, ou EDTA, com a função de inativar os íons Ca^{++} para que não seja possível ativar outros fatores da coagulação inerentes ao processo (Terra, *op. cit.*, p.28).

Para o estudo da coagulação, utiliza-se tubo de ensaio com o anticoagulante citrato de sódio, que possui uma ação quelante sobre o cálcio, isto é, promove a formação de um anel fechado de átomos, no qual está inserido o cálcio, transformando-o em uma forma não ionizada. Segundo Terra, uma das justificativas para inativar o cálcio é que:

“a quelação é o recurso adotado para permitir à protrombina ancorar-se nos fosfolipídios disponíveis na superfície externa da membrana da plaqueta ativada. No complexo molecular resultante, o fosfolipídio permite a aproximação entre a protrombina e outras proteínas, tais como a protease ativa (o fator Xa) e uma proteína estimuladora (o fator V), ambas envolvidas com a ativação da protrombina. O complexo catalisador se designa protrombinase” (Terra, *op. cit.*, p.29).

Após a coleta, o sangue é centrifugado para que o plasma separe-se do sangue total. Feito isso, devem ser adicionados alguns reagentes ao plasma, sendo obrigatória a presença

de algum sal de cálcio ionizável, para retomar a coagulação, e medido o tempo transcorrido até a formação de um coágulo de fibrina.

A fim de se aperfeiçoar as técnicas para indicação da via da coagulação medida por cada teste, os métodos laboratoriais utilizados podem ser divididos em dois grupos. O primeiro perfaz o teste no qual se adiciona ao plasma somente cloreto de cálcio, podendo ser denominado Tempo de Coagulação do Plasma Recalcificado propriamente dito. Neste, a parede do tubo é responsável pela fase de contato e pelo início da formação do coágulo, obtendo resultados semelhantes ao Tempo de Coagulação Clássico, exceto pelo emprego de plasma ao invés de sangue total, o que implica em seu abandono como método de triagem. O segundo grupo utiliza, além do cloreto de cálcio, a adição de algum reagente ao plasma, podendo ser novamente dividido em três métodos diferentes: no primeiro método o reagente utilizado é um fosfolípido, dispensando a necessidade da ação das plaquetas; no segundo, juntamente ao fosfolípido, adiciona-se um reagente específico para o sistema de contato e início da coagulação; e, por fim, o terceiro, que contém, além das substâncias citadas anteriormente, fator tecidual. Este primeiro método, por conter somente fosfolípido, não está mais sendo utilizado, o que determina a presença de dois testes padrões para estudo dos defeitos da coagulação sangüínea; o método que possui fator tecidual²¹ analisa a via extrínseca²², enquanto o que possui apenas um reagente de contato avalia a via intrínseca da coagulação (Terra, *op. cit*, p.30-34).

Considerando a tromboplastina como um reagente completo, atuante nas duas vias de ativação, deve-se nomear cada método anteriormente citado a partir da função que os reagentes exercem em cada processo. No segundo método, como o fosfolípido utilizado somente é capaz de produzir parte dos efeitos que a tromboplastina possui, o teste é denominado Tempo de Tromboplastina Parcial (PTT – Partial Thromboplastin Time). O terceiro, entretanto, além do fosfolípido, possui um reagente ativador de contato, recebendo o nome de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (APTT – Activated PTT). O quarto, por sua vez, é o mais completo de todos, utilizando a tromboplastina total, e recebe o nome de Tempo de Protrombina (PT – Prothrombin Time).

Como já havia sido citado anteriormente, o PT é um teste laboratorial responsável por medir os fatores plasmáticos envolvidos na via extrínseca e na via comum da

²¹ Esse fator tecidual é denominado Tromboplastina.

²² O método em que se analisa a via extrínseca a partir da utilização de tromboplastina também pode medir a via intrínseca, contudo, demonstrações realizadas há muitos anos denotam que a formação de fibrina ocorre mais rapidamente quando é empregado o fator tecidual, pela via extrínseca, excluindo a possibilidade de detecção da outra via.

coagulação. Os valores normais variam entre onze e treze segundos, podendo ainda variar mais dois segundos para mais ou para menos e serem considerados dentro da faixa da normalidade. Um resultado mais curto que o normal pode indicar a presença de medicamentos atuantes na via referida, como os barbitúricos²³, os diuréticos²⁴, os digitálicos²⁵, os anticoncepcionais orais e a vitamina K. Alterações significativas onde haja prolongamento são percebidas quando existe deficiência no fator VII, exclusivo da via extrínseca, ou de fatores da via comum, como, por exemplo, I, II, V e X. Somente pode ser cogitada a hipótese de uma alteração na via comum caso o APTT esteja alterado conjuntamente ao PT. Esse teste não apresenta alterações em pacientes hemofílicos, ao contrário do APTT.

De acordo com Lourenço:

“o PT pode ainda ser expresso em Atividade da Protrombina. Em pacientes recebendo drogas antivitaminas K, o nível de anticoagulação é medido de forma diversa por diferentes reagentes e foi necessário padronizar os resultados, de modo a se estabelecer uma zona terapêutica comum e utilizável por todo o mundo. Esta padronização é feita pela determinação do Índice de Sensibilidade Internacional de cada tromboplastina, chamado ISI, com o qual se pode calcular o chamado INR, que significa Razão Normalizada Internacional, e corresponde à relação do PT do doente sobre o PT do normal, caso se houvesse utilizado a tromboplastina de referência. Assim, qualquer que seja a sensibilidade do reagente utilizado, o nível de anticoagulação, avaliado pelo INR, é sempre o mesmo” (Lourenço, 2001, p. 752).

Os valores normais do APTT variam entre vinte e cinco a trinta segundos, mas, são aceitas diferenças de até oito segundos para determinar a normalidade do teste, após comparação com plasma controle. Esta é a melhor prova para avaliar alterações presentes na coagulação sanguínea, devido à vasta gama de fatores analisados pelo mesmo. O prolongamento desse teste pode indicar alguma alteração nos fatores da coagulação da via intrínseca, podendo-se afirmar que o mais freqüente é a deficiência do fator VIII (aproximadamente 83%), seguida pela deficiência do fator IX (cerca de 14%); as deficiências dos demais fatores geralmente não apresentam manifestações hemorrágicas. Entretanto, não deve ser desconsiderado que tais alterações são percebidas somente até

²³ Fármacos atuantes sobre o sistema nervoso central, inibindo os sinais nervosos para o cérebro, alterando o equilíbrio químico e reduzindo as funções de alguns sistemas orgânicos.

²⁴ Fármacos atuantes nos rins, aumentando o volume urinário.

²⁵ Fármacos usados para diminuir a taxa de contração ventricular e para corrigir as arritmias e fibrilação articular.

níveis próximos de 20% da atividade normal, pois esse é um teste pouco sensível, podendo indicar resultados falso-negativos na forma leve de Hemofilia do tipo A ou B. Este teste é geralmente escolhido para monitorar a heparina, devido à sua alta sensibilidade para com o mesmo (Lourenço, *op. cit.*, p.752).

Tanto o PT quanto o APTT devem ser realizados de forma cuidadosa, para que não haja interferência nos resultados, indicando uma deficiência inexistente. Algumas falhas ocorridas na determinação do resultado atuam com maior influência sob o APTT do que sob o PT, como é o caso da hipótese sobre o consumo de algum fator de contato, por exemplo, o fator XI ou XII, dado pelo vidro do tubo de ensaio, responsável pela ativação da via intrínseca; essa situação não ocorre com o PT, pois a via extrínseca não possui esses fatores de contato. Outro fato bastante considerável relaciona a grande quantidade de fatores medidas pelo APTT, diferentemente do PT, podendo gerar resultados falso-positivos (Terra, *op cit*, p.117). Não devem ser ignorados os possíveis erros que podem vir a ocorrer na hora da colheita do material, da quantidade de citrato de sódio utilizado para uma determinada quantidade de sangue, bem como erros técnicos cometidos durante a análise do plasma (McMillan, *op. cit.*, p.640).

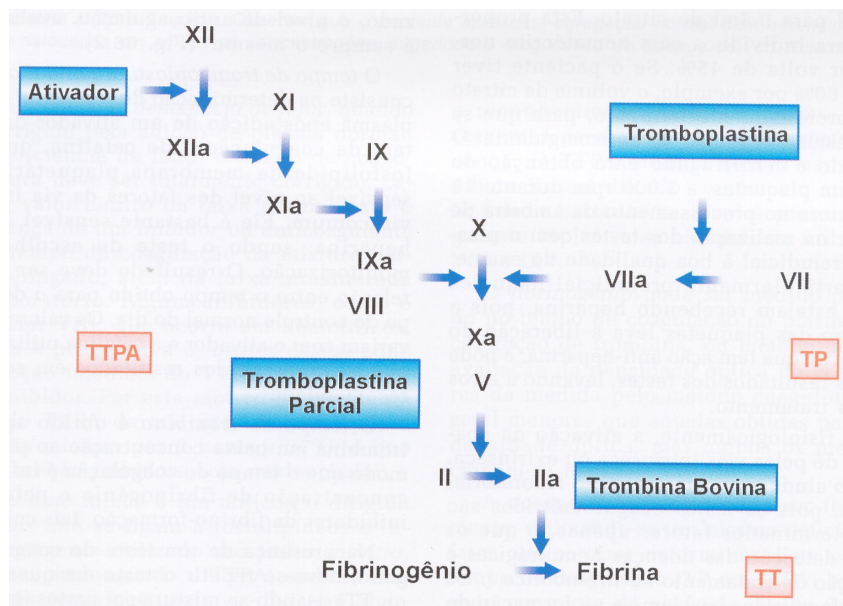
Há uma prova, denominada Prova de Consumo da Protrombina, na qual se analisa a avaliação dos fatores da coagulação VIII e IX e o fator plaquetário 3, a partir da análise do Tempo de Protrombina no soro. Lima *et al.* descreve o mecanismo ocorrido nesse teste:

“Durante a coagulação normal, a tromboplastina intrínseca, formada em quantidade normal, converte quase toda a protrombina do plasma em trombina. Determinando-se o tempo de protrombina no soro, obter-se-á o prolongamento desse tempo, pela ausência quase completa de protrombina. Se, entretanto, houver deficiência de tromboplastina intrínseca, somente uma parte da protrombina será convertida em trombina, deixando um excesso ou resíduo de protrombina no soro. Neste caso, a determinação do tempo de protrombina no soro resultará em encurtamento desse tempo” (Lima *et al.*, *op. cit.*, p.21.104).

Sendo assim, com o aumento da quantidade de protrombina restante no soro, torna-se evidente a deficiência de um dos fatores acima citados. Para diferenciá-los, são realizadas provas específicas em que se utilizam o soro do paciente diluído à 1:1 juntamente com plasma adsorvido pelo sulfato de bário, contendo fator VIII, a fim de diagnosticar a ausência deste, ou soro normal envelhecido, contendo o fator IX, com a mesma finalidade.

O Teste de Geração de Tromboplastina é utilizado para avaliar deficiências na via intrínseca da coagulação. É realizado em duas etapas: na primeira há junção de plasma adsorvido, contendo os fatores V, VIII, XI e XII, soro, de onde provêm os fatores IX, X, XI e XII, fosfolipídios plaquetários e cálcio; a partir desta, deverá gerar tromboplastina, a qual será medida na segunda etapa, após adição de plasma normal e cálcio. Caso a geração de tromboplastina ocorra de forma deficiente, o tempo de coagulação será prolongado e deve ser investigado o fator deficiente, isto é, caso a alteração ocorra com plasma normal e soro do paciente, provavelmente a deficiência seja dos fatores IX ou X da coagulação, enquanto que o tempo prolongado a partir da utilização de plasma do paciente e soro normal indica deficiências nos fatores V ou VIII (Lorenzi *et al. op cit.*, p.482).

O Tempo de Trombina não se encontra alterado em casos de hemofilia, pois se procura determinar o tempo de coagulação de uma amostra de plasma, na qual foi adicionada trombina. Este teste pode estar prolongado quando há algum defeito no fibrinogênio ou estão presentes inibidores da reação trombina + fibrinogênio, como a heparina (Lorenzi *et al. op. cit.*, p.481).



Fatores da Coagulação avaliados pelo Tempo de Protrombina, pelo Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado e pelo Tempo de Trombina.

Após todos esses testes, o diagnóstico definitivo da hemofilia é dado pela dosagem dos fatores VIII e IX, através de métodos imunológicos onde se deseja quantificar a atividade antigênica desses fatores, podendo posteriormente diferenciá-las. Em indivíduos normais, a correlação entre o fator ausente e sua forma antigênica é normal, o que não

ocorre em pacientes hemofílicos, cujos níveis são geralmente baixos, e muitas vezes indetectáveis no soro, daí a necessidade de testes mais sensíveis e específicos (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p. 813).

4.3 - Tratamento

A evolução do diagnóstico clínico e laboratorial permitiu o tratamento rápido e eficaz da hemofilia, o qual sofreu inúmeras modificações para que permitisse o aumento da qualidade de vida do paciente, a partir da administração de concentrados de fatores da coagulação provenientes de bancos de sangue humanos. Novas técnicas estão sendo utilizadas e introduzidas lentamente para possibilitar, no futuro, uma melhora significativa no controle da hemofilia.

Segundo Villaça *et al.*:

“o tratamento pode ser feito sob demanda ou de maneira profilática. O tratamento de demanda deve ser instituído na presença das primeiras evidências de uma hemorragia, enquanto a profilaxia é feita visando evitar um quadro hemorrágico. Dessa maneira, a profilaxia pode ser feita antes de um procedimento, que pode resultar em hemorragia; como uma medida temporária, de curta duração, para reduzir uma tendência hemorrágica aumentada, ou, então, por período prolongado, permanente, a fim de serem evitadas as hemartroses e o desenvolvimento de artropatias” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.813).

4.3.1 - Conduta Geral

O atendimento à pacientes hemofílicos deve ser realizado por uma equipe multidisciplinar da área da Saúde, composta por médicos de diferentes especialidades, como pediatra, geneticista, hematologista, hemoterapeuta, patologista clínico, ginecologista, infectologistas – para o tratamento de doenças como hepatite e AIDS, cujo vírus pode ser transmitido a partir da terapia de reposição de fatores -, fisiatra e ortopedista, dentistas e cirurgiões-dentistas, enfermeiros, profissionais da área da Saúde Mental, assistente social e psicólogo, nutricionistas e fisioterapeutas.

Cada um desses profissionais possui um papel diferente na orientação do paciente e seus familiares, a fim de esclarecer os mecanismos fisiológicos da doença e cuidados que devem ser feitos para a melhora da qualidade de vida. Os enfermeiros podem atuar como

um elo entre os hemofílicos e seus familiares e os outros profissionais da equipe, fornecendo informações básicas sobre os cuidados que os pacientes devem ter. Da mesma forma, o fisiatra e o fisioterapeuta irão orientar os pacientes quanto aos exercícios físicos que deverão ser realizados para o desenvolvimento sem causar danos às articulações, assim como acompanhar o tratamento daqueles que já possuem problemas motores e posturais. A alimentação deve ser balanceada, evitando alimentos que induzam à obesidade, para não haver sobrecarga corpórea sob as articulações.

Embora não seja uma forma de tratamento direto, a orientação psicológica é fundamental para o esclarecimento de dúvidas dos familiares e a forma como devem lidar com essa doença. Esses profissionais devem informar sobre a possibilidade de outro descendente ser hemofílico, em caso de histórico familiar, bem como a importância da participação da família para melhorar o bem-estar do paciente. Este deve sentir-se seguro e capaz de realizar atividades no meio que o cerca, mesmo que de forma cuidadosa e limitada, desenvolvendo o senso de responsabilidade pelo próprio enfermo, o qual se torna mais independente ao perceber que deve seguir regras pré-estabelecidas para não piorar seu quadro clínico, acostumando-se a esse e percebendo os sintomas de sangramento de imediato e a forma como proceder a cada um deles.

O tratamento dentário é muito importante para o hemofílico, pois quanto menores foram as intervenções dos dentistas na região bucal, menor o risco de sangramento. Para isso, recomenda-se controlar desde a alimentação, a qual não deve ser rica em açúcar, pois alguns desses possuem maior facilidade em se ligar à superfície dentária, até a escovação, que deve ocorrer sempre após a ingestão de qualquer alimento, a fim de se reduzir o índice de cáries. Tampouco devem ser ingeridos alimentos durante o intervalo entre as refeições, mas, caso isso ocorra, o alimento preferencialmente não deve ser rico em açúcar (Motta, *op. cit.*).

Os pacientes devem ser tratados constantemente, observando-se sintomas característicos, de acordo com a gravidade da doença. Os hemofílicos da forma grave necessitam de maiores cuidados médicos, sendo acompanhados rigorosamente por essa equipe multidisciplinar, em pequenos intervalos de tempo (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.721).

4.3.2 - Cuidados imediatos

Existem alguns tratamentos não específicos que muitas vezes são eficazes para portadores leves de hemofilia, auxiliando no controle do sangramento. Outros pacientes também deveriam usar essas medidas enquanto aguardam o tratamento de reposição de fatores.

A primeira etapa consiste no repouso da região em que se encontra o sangramento; se a hemorragia localizar-se em um membro inferior, o paciente não deve caminhar de forma alguma, do mesmo modo, sangramentos nos membros superiores não devem ser forçados a nenhum movimento, sendo ambos podendo ser imobilizados através da utilização de uma tala especial ou gesso ortopédico. Esse tratamento pode ser vantajoso, pois impede a movimentação e maiores lesões na área afetada, principalmente se ocorrer em crianças, que possuem maiores dificuldades para entender tais medidas. No entanto, a imobilização do membro por grandes intervalos de tempo pode gerar novas lesões devido à debilidade muscular gerada (World Federation of Hemophilia, 2005).

O tratamento com utilização de gelo pode ser importante para conter o fluxo sanguíneo na região lesada, pois é responsável pelo aumento da constrição vascular (fase primária da hemostasia). Pode ser utilizado na forma de pacotes de gelo, os quais devem ser envolvidos por uma toalha e colocados sob a pele, de forma que não entrem em contato direto com a mesma, ou em pacotes de gel, com os mesmos cuidados. O gelo pode ser mais vantajoso do que o gel por ser encontrado mais facilmente e poder modelar-se de acordo com a forma da região em que está sendo colocado, o não ocorre com o gel, que também pode esfriar mais lentamente a área lesada do que o gelo (WFH, *op. cit.*).

Outra forma de se utilizar essa técnica é a aplicação direta na pele a partir de pequenas quantidades de gelo, realizando-se uma massagem, em movimentos uniformes e circulares, durante o mesmo tempo que o pacote de gelo. Dessa forma, há o esfriamento rápido da região, mas não se obtém resultado quando o sangramento ocorre em grandes áreas, como, por exemplo, os músculos.

Muitos pacientes retiram o gelo antes que este se faça suficiente para diminuir a hemorragia; deve-se esperar quatro sensações ocorrerem na região lesada, nesta ordem, frio, dor, ardência e entorpecimento, para que o gelo seja retirado. A permanência do gelo por tempo demasiado, por sua vez, pode prejudicar a função plaquetária, invertendo o efeito anteriormente obtido, pois aumenta o calibre dos vasos a fim de levar mais sangue ao local do sangramento.

As compressões podem ser utilizadas em casos de hemorragias subcutâneas ou intramusculares, a partir do envolvimento dessas articulações por bandagens, as quais pressionam levemente o local do sangramento a fim de conter a hemorragia. Deve-se ter certos cuidados para que um simples procedimento não cause maiores problemas ao paciente, como a observação da cor e da temperatura dos dedos das mãos e dos pés para que não haja comprometimento da circulação sanguínea; a verificação do local da hemorragia porque, caso esteja causando pressão em outros vasos sanguíneos ou em nervos, não é recomendado o uso de compressas; e o aumento da dor, o que requer alargamento da compressa para não piorar o estado do paciente (WFH, *op. cit.*).

A elevação da região em que está ocorrendo a hemorragia a um nível acima do coração pode reduzir a pressão sobre os vasos sanguíneos afetados, minimizando a perda de sangue.

A terapia adjuvante com drogas consiste na utilização de fármacos como analgésicos, agentes antiinflamatórios e agentes antifibrinolíticos para auxiliar no tratamento (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.729).

Os analgésicos são utilizados constantemente pelos hemofílicos, a fim de combater episódios dolorosos que os acometem. Para não causarem riscos aos pacientes, os médicos deverão analisar cada medicamento e sua composição, evitando-se aqueles que interferem no mecanismo da coagulação sanguínea, como é o caso do ácido acetilsalicílico. Tal fármaco possui efeito antiagregante plaquetário devido à interação que ocorre entre o grupamento acetil e a membrana plaquetária, inibindo a atividade da enzima ciclooxigenase, o que diminui a formação de prostaglandinas e tromboxanos a partir do ácido araquidônico. Outras substâncias, como propoxifeno (Darvon), acetaminofenol (Tylenol), pentazocina (Talwin), codeína e metadona, possuem ação semelhante ao ácido acetilsalicílico e podem substituí-lo.

Os antiinflamatórios não-esteróides são um grupo de drogas que impedem a produção de prostaglandinas, dos quais pertence o ácido acetilsalicílico. Devida a essa função, devem ser inutilizados em pacientes hemofílicos, sendo substituídos por corticosteróides. Algumas drogas podem ser prejudiciais ao hemofílico caso sejam administradas em grandes quantidades, como, por exemplo, a indometacina, (Indocin), a fenilbutazona (Butazolidine) e o ibuprofem (Motrin) (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.729).

Os principais agentes antifibrinolíticos utilizados são o ácido tranexâmico e o ácido épsilon-aminocaprílico (EACA), cuja ação inibidora sobre a atividade do plasminogênio é

bastante eficaz quando administrada para extrações dentárias. O EACA não tem sido recomendado no tratamento da hemartrose, já que o coágulo formado pode não ser absorvido durante meses, contribuindo para a formação de fibrose e maior destruição da articulação. (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.520-521). Também não são indicados em pacientes hemofílicos do tipo B que estejam recebendo como tratamento o complexo protrombínico, ou em casos de hematúria.

4.3.3 - Terapia de Reposição

A disponibilidade dos concentrados de fatores da coagulação, iniciada em 1968, ao passo que auxiliava no tratamento da hemofilia, expunha os hemofílicos a inúmeros vírus, pois o sangue provinha de doadores de todo o mundo, sem que houvesse certo controle. Os piores casos registrados relacionam-se com o vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) e o vírus da hepatite C (HCV). Na década de 1980, a AIDS era a maior causa de morte entre os hemofílicos, mas atualmente não representa grandes riscos devido à seleção dos doadores, que devem realizar inúmeros exames a fim de serem detectadas doenças passíveis a transmissão.

A reposição é a melhor forma para restaurar as funções hemostáticas, uma vez que a administração das quantidades corretas do fator ausente, sendo avaliadas a deficiência e a intensidade do sangramento, possibilita a formação do coágulo da mesma forma que em um indivíduo normal (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.721).

O cálculo realizado para saber a dosagem suficiente para repor o fator ausente no hemofílico baseia-se no peso do paciente, no volume plasmático suposto e na gravidade do episódio do sangramento. Deve-se considerar que “uma unidade internacional de fator VIII ou IX corresponde à quantidade de atividade coagulante presente em 1mL de plasma fresco normal, e uma unidade internacional é igual a 100% da atividade do fator da coagulação” (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.723). Sendo assim, uma unidade de fator VIII/kg de peso corporal aumenta em 2% o nível plasmático desse fator, ao mesmo tempo em que a mesma quantidade de fator IX/kg de peso corporal eleva em 1% o nível de tal fator no sangue, diferença esta determinada pela maior quantidade de fator IX que é absorvida pelo espaço extracelular.

O plasma fresco congelado é um produto em que estão contidos todos os fatores da coagulação, geralmente utilizado quando o paciente não necessita de grandes doses de fatores da coagulação. É obtido de um único doador, evitando-se o grande risco de

contaminação viral, mas, ao mesmo tempo, seu uso é limitado, pois somente “10 a 15 mL/kg podem ser administrados com segurança em uma única dose, com elevação de 15 a 20% na atividade do fator” (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.721). Dessa forma, torna-se bastante útil no tratamento de hemofílicos leves com deficiência tanto no fator A quanto no fator B, pois não requer a necessidade de transfusão de grandes quantidades plasmáticas.

O crioprecipitado, como anteriormente citado, contém grande quantidade de fator VIII e fibrinogênio, e também é obtido de somente um doador, diminuindo as chances de contaminação, “preparado a partir de plasma que apresenta triagem sorológica negativa para hepatite B e C, HIV ½, HTLV-1, lues²⁶ e doença de Chagas” (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.813). Uma única unidade de crioprecipitado pode concentrar cerca de dez vezes o fator VIII em 10 mL de plasma, e podem-se recuperar 30 a 60% do fator a partir do plasma do doador. É um produto extremamente puro no que diz respeito aos fatores da coagulação, mas não possui contaminação nula, por mais que existam técnicas para um efetivo controle.

Os concentrados liofilizados de fator VIII são obtidos a partir de *pools* de plasma, ou seja, junções de diferentes plasmas humanos, submetidos a vários processos físicos e químicos, dentre eles, o calor seco, a pasteurização, o calor úmido, a nanofiltração e o tratamento com solventes e detergentes. Possuem muitas vantagens, como a boa aceitação pelo médico e pelo paciente, pois são de fácil armazenamento, seguros e fáceis de serem administrados, além de reduzir as reações transfusionais devido à eliminação de leucócitos e plaquetas na produção do concentrado. Entretanto, por ser um plasma misturado, ainda possui grandes riscos para a saúde do paciente, por não conseguir conter todos os doadores contaminados pelo vírus da hepatite, mesmo que sejam submetidos aos testes. Além disso, a possível presença de isoaglutininas A e B podem gerar anemia hemolítica em pacientes com tipo sanguíneo A, B ou AB. Para o tratamento de hemofilia B, são utilizados concentrados liofilizados de fatores II, VII, IX e X.

A desmopressina ou DDAVP é uma droga sintética utilizada somente em pacientes hemofílicos do tipo A leves ou moderados, por aumentar transitoriamente o nível do fator VIII no sangue, através da liberação deste que se encontrava em reserva, não necessitando da transfusão para que haja reposição desse fator. Esse fármaco pode triplicar o nível do fator VIII na corrente sanguínea, e deve ser administrado por via intravenosa, por injeção

²⁶ Sífilis.

subcutânea ou como um intranasal, durante vários dias seguidos (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.815).

Em aproximadamente 45% dos pacientes hemofílicos do tipo A há a formação de aloanticorpos para os fatores da coagulação, ou seja, são desenvolvidos anticorpos neutralizantes em pacientes hemofílicos depois de prolongadas sessões de terapia de reposição com o fator de coagulação ausente. Isso significa que posteriores transfusões de fatores atuariam como fornecedoras de antígenos indutores de anticorpos. Nos hemofílicos leves, em 50 a 75% dos casos, tais anticorpos vão desaparecendo aos poucos, mesmo com a utilização do fator ausente. O tratamento desses pacientes torna-se extremamente difícil, pois a terapia de reposição é ineficaz, além de se tratar de pacientes portadores da forma grave da doença, necessitando outras técnicas para conter as crises hemorrágicas, como, por exemplo, a utilização de concentrados protrombínicos²⁷, fator VIII de origem porcina e fator VII ativado recombinante. Os hemofílicos do tipo B raramente são atingidos pela formação de inibidores, perfazendo cerca de 2 a 6% dos hemofílicos graves; estes recebem como principais formas de tratamento o complexo protrombínico e o fator VII ativado recombinante. Somente a erradicação dos inibidores, através de protocolos específicos (imunotolerância), pode tornar o hemofílico passível de ser tratado novamente com o uso de doses habituais de concentrados de fatores de coagulação (Villaça *et al.*, *op. cit.*, p.816).

Novas técnicas de pesquisa possibilitaram a identificação e desenvolvimento do fator VIII e do fator IX, ambos recombinantes, a partir de 1992 e 1997, respectivamente (Lorenzi *et al.*, *op. cit.*, p.521). Bastante utilizados em países europeus e da América do Norte, ainda não foram difundidos no Brasil, devido ao seu elevado custo de produção, levando aos pacientes optarem por métodos mais baratos, mas que não possuem a segurança deste, uma vez que não há riscos de transmissão de doenças virais. Além disso, podem ser importantes no tratamento de pacientes hemofílicos com inibidores.

A forma mais nova de tratamento, aprovada na Europa em 1996, consiste na utilização de fator VII ativado recombinante, idêntico ao fator humano, apenas se apresentando livre de agentes transmissores de doenças, já que não é composto por plasma humano. Essa moderna técnica desenvolvida por estudos de biologia molecular é bastante eficaz no tratamento de hemorragias, mesmo se estas forem graves, e no controle do sangramento associado com processos cirúrgicos em pacientes hemofílicos com inibidores, além de conter os sangramentos ocorridos em pacientes com hemofilia adquirida, isto é,

²⁷ Preparações complexas que contêm fatores II, VII, IX e X.

uma doença raríssima na qual surgem anticorpos para o fator VIII em pessoas normais, que nunca tiveram predisposição genética para o desenvolvimento da hemofilia. Por ser fruto de intensas pesquisas, é bastante utilizado em vários países como o melhor tratamento em pacientes com inibidores, mais ainda não possui tal importância no Brasil.

O fator VII ativado recombinante pode atuar de duas formas diferentes no mecanismo hemostático, a primeira consiste na formação de um complexo ativo com o fator tecidual, um co-fator essencial para o fator VIIa. Essa ligação aumenta a atividade proteolítica do fator VIIa, tornando-o capaz de ativar os fatores X e XI, através de proteólise limitada, resultando numa seqüência de reações finalizadas com a formação de trombina; a segunda resulta da interação fraca determinada entre as plaquetas, que não expressam fator tecidual, e o fator VII, gerando pequenas quantidades de trombina. Mesmo não sendo tão eficaz quanto o complexo FIXa-FVIIIa, que produz trombina suficiente para a formação de um coágulo resistente, a ligação induzida ocorrida entre as plaquetas e o fator VIIa é maior do que se observa em pacientes hemofílicos. Essas duas etapas podem atuar conjuntamente, de forma que a ação da primeira utilizando todo o fator tecidual disponível, gerando uma situação em que o tampão hemostático formado realiza sua separação física com os fatores da coagulação, necessitando posterior desenvolvimento do mecanismo dependente das plaquetas para continuar a formação de trombina (D'Amico, 2005).

4.3.4 - Cuidados domiciliares

A introdução do tratamento domiciliar iniciou-se na década de 1970 e, desde então, atinge inúmeros pacientes hemofílicos. Para que esse procedimento seja possível, faz-se necessária a qualificação dos pacientes e seus familiares, de forma a prender informações básicas sobre a patogenia, o diagnóstico e o tratamento da doença, bem como as responsabilidades que tal enfermidade lhes impõe. Entretanto, não se deve abandonar o tratamento médico; pelo contrário, a contínua consulta médica possibilita a avaliação do método domiciliar, observando-se se o mesmo não está gerando problemas aos pacientes.

A escolha do paciente baseia-se não somente em dados laboratoriais que devem indicar a ausência de inibidores e a gravidade da hemofilia, como também a sua situação psicológica, além de ter mais de quatro anos de idade (Hilgartner & McMillan, *op. cit.*, p.730).

A infusão domiciliar é a introdução do concentrado de fator em uma veia periférica, realizada por um familiar ou pelo próprio paciente, daí o nome auto-infusão. Esta técnica pode ser bastante vantajosa, pois permite que o paciente tenha mais liberdade com relação ao seu tratamento, possibilitando o remanejamento do tempo antes utilizado para a ida aos Hemocentros especializados, de forma a aproveitá-lo em atividades pessoais.

4.3.5 - Situação atual e perspectivas futuras

O Ministério da Saúde é o fornecedor de produtos derivados do plasma humano (hemoderivados), principal técnica utilizada no Brasil, os quais passam por inúmeros processos visando a sua inativação viral e purificação, mas ainda assim não são totalmente seguros; entretanto, a utilização de fatores recombinantes poderia ser a melhor forma de tratamento, não fosse o fato de ser uma tecnologia nova no país e despender elevado custo de produção. Este órgão possui atualmente um Programa de Atenção Integral aos Pacientes Portadores de Coagulopatias Hereditárias, lançado em novembro de 2004, onde visa aumentar a capacidade técnica dos serviços que tratam os pacientes hemofílicos, no sentido de melhorar o diagnóstico e orientar sobre a patogenia da doença, além de deflagrar as melhores formas de tratamento de acordo com o tipo e a gravidade da doença.

Essa situação não ocorre somente no Brasil, como também na grande maioria dos países em desenvolvimento, que não possuem recursos para o tratamento dos hemofílicos. Dados da Federação Mundial de Hemofilia/Organização Mundial de Saúde revelam que somente cerca de 25% dos hemofílicos no mundo todo recebem orientações e tratamento adequado. Considerando-se o custo voltado para a produção de hemoderivados e para o desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento sem riscos de transmissão de doenças, torna-se óbvia a escolha realizada pelos países do Terceiro Mundo no que diz respeito ao tratamento do paciente hemofílico, mesmo que esse custo seja inferior ao benefício gerado para o doente.

No Rio de Janeiro existem instituições assistenciais voltadas para o atendimento ao paciente hemofílico. As principais são a Associação dos Hemofílicos do Rio de Janeiro (AHRJ), fundada em 1968, e a Associação dos Hemofílicos e Pessoas com Doenças Hemorrágicas Hereditárias (AHPAD), fundada em 1996. Ambas são sociedades filantrópicas sem fins lucrativos, filiadas à Federação Brasileira de Hemofilia, fundada em 1976, a qual atualmente possui sede no Centro dos Hemofílicos do Estado de São Paulo. Essa federação tem participado efetivamente junto ao governo e à comunidade científica,

na busca de soluções para a manutenção do abastecimento dos fatores de coagulação de qualidade e em quantidade suficiente, bem como pela instituição de uma política de atenção, que assegure condições dignas de tratamento em todo o país.

As técnicas que estão sendo estudadas atualmente com possibilidades de utilização no futuro consistem na manipulação e transferência de material genético para células do paciente, com o principal objetivo de eliminar as doenças, substituindo a ingestão de medicamentos ou a realização de cirurgias. Devido à escassez de estudos sobre genética de pacientes hemofílicos, essa doença atrai inúmeras pesquisas de terapia gênica no âmbito de melhorar o tratamento aos mesmos.

A terapia gênica atua modificando o DNA do portador de determinada doença. No caso da hemofilia, há transferência dos genes responsáveis pela produção de fator VIII ou fator IX para as células do paciente, induzindo-as a produzir o fator ausente. Entretanto, essa transferência somente ocorre quando há participação de três elementos básicos: um vetor para transportar o gene, geralmente proveniente de um vírus, o gene a ser transferido e a célula em que será implantado o material genético. Alguns pacientes desenvolvem rejeição a esse tratamento devido à procedência viral do vetor, considerado um antígeno, ou, até mesmo, aos genes introduzidos, que muitas vezes são exatamente iguais (Nascimento, 2005).

Essa pesquisa está sendo realizada há cerca de quinze anos, em animais com hemofilia B, e há seis anos iniciaram-se as pesquisas em humanos, nos Estados Unidos. O Brasil é o único país da América Latina que está inserido no grupo que investiga o procedimento de terapia gênica para hemofílicos com deficiência no fator IX da coagulação. No primeiro estudo clínico, o gene contendo o código correto foi injetado nas células musculares da coxa. Numa segunda fase, em novo ensaio com o mesmo grupo de hemofílicos, o alvo foi a célula do fígado, órgão responsável pela produção da proteína nas pessoas sem a doença. A intenção era fazer com que a própria artéria hepática produzisse a proteína necessária (Fagundes, 2005).

Os resultados ainda estão sendo avaliados, mas já é possível perceber grande evolução desta forma alternativa de tratamento, a qual poderá substituir intensos gastos nos tratamentos considerados usuais atualmente através da viabilização de novas formas terapêuticas, pois se tornará acessível principalmente em países em desenvolvimento, que não possuem acesso aos fatores recombinantes produzidos em laboratório.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização deste trabalho possibilitou a compreensão da relação intrínseca entre as diversas áreas do conhecimento científico que, transpondo à monografia, foram representadas pela Hematologia e pela Genética, a partir da investigação científica, isto é, é importantíssimo o estudo dos mecanismos existentes em processos fisiológicos humanos e suas aplicações caso haja alterações decorrentes de mutações genéticas, uma vez que necessitam cuidados especiais para a eficácia do tratamento.

Decorrente desta percepção, faz-se necessário o aprimoramento do acesso à informação, não somente à população, como também à comunidade científica, pois a Hemofilia é uma doença facilmente caracterizada e diagnosticada a partir da análise laboratorial, que visa a investigação do processo hemostático, desde a constrição vascular até a formação do coágulo rico em fibrina, através da cascata da coagulação, na qual cada fator possui biossíntese e concentração molar próprias de acordo com a posição em que se encontra na cascata. Sendo assim, quanto mais inicial for o papel do fator na cascata, mais alta sua posição na mesma e menor será sua concentração.

Deve-se entender, primeiramente, o processo de formação das células e proteínas encontradas no sangue, como elas interagem entre si e com o meio, e qual o planejamento das mesmas para suportar a interferência de fatores externos, onde são incluídos não somente antígenos como também o meio como causador potencial de modificações no DNA.

A hemofilia possui algumas peculiaridades que a torna única no mundo, como a forma de transmissão, sintomas característicos, tratamento diversificado, embora não seja divulgado e, muitas vezes, indisponibilizado etc. Excetuando-se o local em que ocorre a mutação no cromossomo X, que definirá o fator da coagulação ausente, e a incidência na população, quase não existem diferenças entre os dois tipos de Hemofilia A e B.

Não devem ser desconsiderados os diversos resultados que podem transparecer no diagnóstico, prolongando o tempo do teste, como, por exemplo, a presença de inibidores, a concentração baixa de um fator no sangue circulante, caso haja falência do mesmo, e a concentração baixa na amostra de plasma separada pelo laboratório, geralmente proveniente de alguma falha durante a colheita do material. O prolongamento do Tempo de Coagulação, do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado, do teste de Geração de Tromboplastina e do Consumo de Protrombina são os maiores indicadores de alterações a

nível hemostático, mas a dosagem dos fatores VIII coagulante ou IX poderá definir com maior especificidade o diagnóstico da hemofilia.

Dessa forma, percebe-se que não há garantia total de sensibilidade nos métodos de triagem laboratorial, que muitas vezes requerem diagnósticos mais precisos, embasados na biologia molecular. Entretanto, ainda há muito a ser desenvolvido neste aspecto, pois a tecnologia encontra-se presente em países da América do Norte e Europa, mas não está disponível para grande parte dos pacientes que residem em regiões em desenvolvimento. A melhora de tais aspectos torna-se efetiva após a sensibilização do Poder Público e da população para o problema de pacientes que poderiam ter uma vida normal, mas que muitas vezes torna-se prejudicada devido à ausência de informações disponíveis tanto para os pacientes e familiares, quanto para pessoas saudáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, S.V. coord. *O que é hemofilia?* Disponível em: <http://www.novocare.com.br/folhetos/livreto_hemofilia_01.pdf>. Acesso em: 19 de julho de 2005.
- ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DOS HEMOFÍLICOS. *A Hemofilia – História*. Disponível em: <http://www.aphemofilicos.pt/hemofilia_historia.asp>. Acesso em: 17 de setembro de 2005.
- BASTOS, L.R.; PAIXÃO, L.; FERNANDES, L.M.; DELUIZ, N. *Manual para a elaboração de projetos e relatórios de pesquisa, teses, dissertações e monografias*. 6ª ed. rev. Rio de Janeiro: LTC, 2003.
- BEKE, A.; BÁN, Z.; NAGY, B.; TÓTH-PÁL, E.; PAPP, C.; CSABA, A.; PAPP, Z. *Pré- and Perinatal Relations of Hemophilia A and B. Fetal Diagnosis and Therapy*, 1st Department of Obstetrics and Gynecology, Semmelweis University, Budapest, Hungary, v.1, p. 17-25, January-February 2003.
- CAMPOS, S. *Terapia Gênica para a Hemofilia*. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias.php?noticiaid=11586&assunto=Genética/Clonagem/Terapia%20gênica>>. Acesso em: 15 de novembro de 2005.
- CAVALCANTE, M.B.; ALENCAR JR., C.A. *Fatores de risco para tromboembolismo na gestação*. Disponível em <<http://www.imunorepro.med.br/artios/artigos7.html>>. Acesso em 10 de janeiro de 2005.
- CENTRO DOS HEMOFÍLICOS DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Organizações para o hemofílico*. Disponível em: <<http://chesp.sites.uol.com.br/>>. Acesso em: 20 de novembro de 2005.
- CORRIGAN JR., J.J. Neonatal Coagulation Disorders. In: ALTER, B.P. *Perinatal Hematology*. London: Churchill Livingstone, 1989, Cap. 7, p. 165-193.
- D'AMICO, E. *Fator VII Ativado Recombinante – Uso em Hemofilia e Outras Condições Clínicas*. Disponível em: <http://www.novocare.com.br/folhetos/fator_VII.pdf>. Acesso em 15 de junho de 2005.
- D'AMICO, E.A.; VILLAÇA, P.R. Doença de von Willebrand. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 74, p.819-831.
- DIAGNÓSTICOS DA AMÉRICA. *Índice de Exames - Hemograma*. Disponível em: <http://www.diagnosticosdaamerica.com.br/conhecmedico_indice.php>. Acesso em 20 de novembro de 2005.
- FAGUNDES, V. *Hemofilia - Estudo da doença possibilita aconselhamento genético*. Disponível em: <<http://revista.fapemig.br/materia.php?id=250>>. Acesso em 24 de novembro de 2005.

- FALCAO, R.P.; CALADO, R.T. Heterogeneidade das Células do Sangue. Órgãos hematopoéticos e linfopoéticos. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 1, p.3-13.
- FRANCO, R.F. Fisiologia da Coagulação do Sangue e da Fibrinólise. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 65, p. 739-748.
- ___ Defeitos Moleculares das Hemofilias A e B. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 72, p. 797-802.
- GUYTON, A.C. Eritrócitos, Anemia e Policitemia. In: GUYTON, A.C. *Tratado de Fisiologia Médica*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap.32, p. 312-319.
- ___ Hemostasia e Coagulação do Sangue. In: GUYTON, A.C. *Tratado de Fisiologia Médica*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap.36, p. 341-349.
- HILGARTNER, M.W; MCMILLAN, C.W. Distúrbios da Coagulação. In: MILLER, D.R.; PEARSON, H.A.; BAEHNER, R.L.; MCMILLAN, C.W. *Hematologia Pediátrica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 25, p. 705-770.
- LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. Hematologia. In: LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J.R. *Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica – Técnica e Interpretação*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 21, p. 21.1-21.107.
- LORENZI, T.F.; D’AMICO, E.; DANIEL, P.A.; SILVEIRA, P.A.A.; BUCHERI, V. Hemopoese. Origem das Células do Sangue. Citologia das Células do Sangue e dos Órgãos Hemoformadores. In: LORENZI, T.F.; D’AMICO, E.; DANIEL, P.A.; SILVEIRA, P.A.A.; BUCHERI, V. *Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. Cap. 1, p. 1-43.
- ___ Fisiologia das Células do Sangue e da Hemostasia. In: LORENZI, Therezinha F. *et al. Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. Cap. 2, p. 45-192.
- ___ Patologia da Hemostasia. In: LORENZI, T.F.; D’AMICO, E.; DANIEL, P.A.; SILVEIRA, P.A.A.; BUCHERI, V. *Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. Cap. 5, p. 477-552.
- LOURENÇO, D.M. Trombopoese e Dinâmica das Plaquetas. In: ZAGO, M.A., FALCÃO, R.P. & PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 7, p. 69-73.
- ___ Avaliação Laboratorial da Hemostasia. In: ZAGO, M.A., FALCÃO, R.P. & PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 66, p. 749-755.

- MAJERUS, P.W.; BROZE JR, G.J.; MILETICH, J.P.; TOLLEFSEN, D.M. Fármacos Anticoagulantes, Trombolíticos e Antiplaquetários. In: GILMAN, A.G. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Mc Graw-Hill, 1996.
- MANO, R. *Drogas que atuam sobre as plaquetas – Ativação Plaquetária*. Disponível em: <<http://www.manuaisdecardiologia.med.br/dac/Antiagregantesplaq.htm>>. Acesso em 13 de fevereiro de 2005.
- MCMILLAN, C.W. Hemostasia: Considerações Gerais. In: MILLER, D.R.; PEARSON, H.A.; BAEHNER, R.L.; MCMILLAN, C.W. *Hematologia Pediátrica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 23, p. 628-647.
- ___ Distúrbios Plaquetários e Vasculares. In: MILLER, D.R.; PEARSON, H.A.; BAEHNER, R.L.; MCMILLAN, C.W. *Hematologia Pediátrica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 24, p. 648-704.
- MIBASHAN, R.S.; PEAKE, I.R.; NICOLAIDES, K.H. Prenatal Diagnosis of Hemostatic Disorders. In: ALTER, B.P. *Perinatal Hematology*. London: Churchill Livingstone, 1989, Cap. 4, p. 64-107.
- MILLER, D.R. Valores Hematológicos Normais e Exame do Sangue: Período Perinatal, Lactância, Infância e Adolescência. In: MILLER, D.R.; PEARSON, H.A.; BAEHNER, R.L.; MCMILLAN, C.W. *Hematologia Pediátrica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 2, p. 9-28.
- MORELLI, V.M. Estrutura e Funções das Plaquetas e das Células Endoteliais. In: ZAGO, M.A., FALCÃO, R.P. & PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 64, p. 731-737.
- MOTTA, K.M. *Manual do Paciente – Hemofilia*. Disponível em: <<http://www.hemorio.rj.gov.br/Manuais/novos/Hemofilia.pdf>>. Acesso em: 30 de julho de 2005.
- NASCIMENTO, P.C. *De olho no futuro, Hemocentro aposta na área da Terapia Gênica*. Disponível em: <http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/agosto2004/ju263pag03.html>. Acesso em: 24 de novembro de 2005.
- PEARSON, H.A. Origem e Desenvolvimento das Células Sangüíneas e Fatores da Coagulação. In: MILLER, D.R.; PEARSON, H.A.; BAEHNER, R.L.; MCMILLAN, C.W. *Hematologia Pediátrica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 1, p. 2-8.
- REGO, E.M. Hematopoese. Regulação e Microambiente. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*, São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 2, p. 15-22.
- SANDOVAL, E. coord. *Auto-infusão e infusão domiciliar*. Disponível em: <http://www.novocare.com.br/folhetos/livreto_hemofilia_02.pdf>. Acesso em: 19 de julho de 2005.

TERRA, P. Análise Comparativa e Crítica dos Métodos Laboratoriais Disponíveis para as Rotinas. In: TERRA, P. *Coagulação: Interpretação Clínica dos Testes Laboratoriais de Rotina*. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 2, p. 17-34.

___ Correlação Clinicolaboratorial. In: TERRA, P. *Coagulação: Interpretação Clínica dos Testes Laboratoriais de Rotina*. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 5, p. 69-165.

VERGARA, T.R.C. O que é Hemofilia. Disponível em: <<http://www.ahrj.org.br/institucional/oqehemofilia.asp>>. Acesso em: 10 de março de 2005.

VERRASTRO, T. Hemostasia. In: VERRASTRO, T., coord. *Hematologia e Hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica*. São Paulo: Atheneu, 2002. Cap. 18, p.181-191.

___ Coagulopatias. In: VERRASTRO, T., coord. *Hematologia e Hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica*. São Paulo: Atheneu, 2002. Cap. 21, p.211-224.

VERRASTRO, T. Hematologia. In: MOURA, R.A., coord. *Técnicas de Laboratório*. 3ª ed. São Paulo: Atheneu, 2002. Parte 4, p.333-412.

VILLAÇA, P.R., CARNEIRO, J.D.A. & D'AMICO, E.A. Hemofilias. In: ZAGO, M.A., FALCÃO, R.P. & PASQUINI, R., eds. *Hematologia: Fundamentos e prática*. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 73, p.803-818.

WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA. *Hemophilia in Pictures*. Disponível em: <<http://www.wfh.org/index.asp?lang=EN>>. Acesso em: 3 de dezembro de 2005.