



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

VIVIANE KELLY DE ALBUQUERQUE LIMA

**INFLUÊNCIA DE FATORES PRÓ-TROMBÓTICOS NO QUADRO CLÍNICO DE
PACIENTES HEMOFÍLICOS DO TIPO A**

Recife

2023

VIVIANE KELLY DE ALBUQUERQUE LIMA

**INFLUÊNCIA DE FATORES PRÓ-TROMBÓTICOS NO QUADRO CLÍNICO DE
PACIENTES HEMOFÍLICOS DO TIPO A**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer
Coorientadora: Ma. Anne Maely Maria de Sales Ferreira

Recife
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lima, Viviane Kelly de Albuquerque.

Influência de fatores pró-trombóticos no quadro clínico de pacientes hemofílicos do tipo A / Viviane Kelly de Albuquerque Lima. - Recife, 2023. 47 : il., tab.

Orientador(a): Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer

Cooorientador(a): Anne Maely Maria de Sales Ferreira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, apêndices.

1. Hemostasia. 2. Coagulopatias. 3. Hemofilias . I. Hatzlhofer, Betânia Lucena Domingues. (Orientação). II. Ferreira, Anne Maely Maria de Sales. (Coorientação). III. Título.

610 CDD (22.ed.)

VIVIANE KELLY DE ALBUQUERQUE LIMA

**INFLUÊNCIA DE FATORES PRÓ-TROMBÓTICOS NO QUADRO CLÍNICO DE
PACIENTES HEMOFÍLICOS DO TIPO A**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 13/04/2023

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Betânia Lucena Domingues Hatzlhofer (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Dijanah Cota Machado

Universidade Federal de Pernambuco

Msc. Gabriela da Silva Arcanjo

Universidade Federal de Pernambuco

RESUMO

A hemofilia A é uma doença hemorrágica ligada ao cromossomo X e caracteriza-se pela deficiência do fator de coagulação VIII (FVIII). Atualmente, a severidade da hemofilia é definida pela atividade residual do FVIII, podendo ser grave, moderada ou leve. Entretanto, o fenótipo hemofílico dos pacientes graves é heterogêneo e modulado por vários aspectos além do nível plasmático do fator deficiente, como tipo de mutação genética presente e questões socioeconômicas. Os fatores pró-trombóticos (FPT) são um dos possíveis marcadores sob investigação de compor o quadro de moduladores de sintomas hemorrágicos. O objetivo deste trabalho é analisar estudos que correlacionam os seguintes fatores pró-trombóticos como modulador da clínica de pacientes hemofílicos: Fator V de Leiden (G1691A), protrombina mutante (G20210A) e polimorfismo do gene da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T). Delinear os FPT pode auxiliar no prognóstico dos pacientes hemofílicos, tendo em vista a melhora da qualidade de vida desses. Para isso, foram utilizados 19 artigos publicados entre os anos de 1995 e 2018 encontrados em três bancos de dados (Google Scholar, Pubmed e Lilacs). Os resultados observados demonstram que as mutações no gene do Fator V de Leiden e a protrombina mutante G20210A mostraram-se especialmente correlacionadas com a melhora do fenótipo hemofílico, como diminuição da frequência de hemorragias. Foram encontrados poucos dados de associação positiva para o MTHFR C677T, mas ainda sim este polimorfismo foi frequentemente correlacionado com o início mais tardio dos sintomas hemorrágicos. É necessário que estudos de coorte com maior número de pacientes de mesmo diagnóstico, sejam realizados para maior acuracidade sobre o papel dos FPT na hemofilia, incluindo na análise pacientes com mesmo grau de severidade e associação com o desenvolvimento de inibidores. Salienta-se que saber a importância dos FPT na clínica hemofílica pode ser um passo para melhorias futuras no manejo clínico individualizado dos pacientes.

Palavras-chave: Hemofilia A; Fatores pró-trombóticos; Fenótipo hemofílico.

ABSTRACT

Haemophilia A is an X-linked bleeding disorder characterised by a deficiency of clotting factor VIII (FVIII). Currently, the severity of haemophilia is defined by the residual activity of FVIII, which can be severe, moderate or mild. However, the hemophilic phenotype of severe patients is heterogeneous and modulated by several aspects in addition to the plasma level of the deficient factor, such as the type of genetic mutation present and socioeconomic issues. Prothrombotic factors (PTF) are one of the aspects that are under investigation to compose the picture of modulators of hemorrhagic symptoms. This study aims to analyse articles that correlate the following prothrombotic factors as a modulator of clinical haemophiliacs: Factor V Leiden, mutant prothrombin (PTG20210A) and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism (MTHFR C677T). Delineating the PTF role in modulating bleedings can help in the prognosis of haemophilia patients, helping to improve their quality of life. For this purpose, 19 articles published between the years 1995 and 2018 were used, found in three databases (Google Scholar, Pubmed and Lilacs). The observed results demonstrate that mutations in the factor V gene, especially the G1691A mutation (Factor V Leiden) and the G20210A mutant prothrombin, were especially correlated with the improvement of the hemophilic phenotype, such as a decrease in the frequency of haemorrhages. MTHFR C677T has fewer positive results, but is still often correlated with later onset of bleeding symptoms. It is necessary that cohort studies with a larger number of patients with the same diagnosis be carried out for greater accuracy on the role of PTF in haemophilia, including in the analysis patients with the same degree of severity and association with the development of inhibitors. It should be noted that knowing the importance of PTF in the haemophilia clinic can be a step towards future improvements in the individualized clinical management of patients.

Keywords: Haemophilia A; Prothrombotic factors; Haemophilic phenotype.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO	10
2.1 HEMOSTASIA	10
2.2 DEFICIÊNCIA DOS FATORES DE COAGULAÇÃO	11
2.3 HEMOFILIA A: FISIOPATOLOGIA E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	11
2.4 ASPECTOS GENÉTICOS E MOLECULARES DA HEMOFILIA A	12
2.5 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA HEMOFILIA	13
2.5.1 Hemartrose	13
2.5.2 Sinovite	14
2.5.3 Artropatia hemofílica	15
2.5.4 Hematomas musculares	16
2.5.5 Sangramentos no trato gastrointestinal e sistema nervoso central	17
2.6 DIAGNÓSTICO	18
2.6.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado - TTPA	19
2.6.2 Dosagem específica de fatores	19
2.6.3 Diagnóstico diferencial	20
2.7 TRATAMENTO	21
2.8 MODULADORES FENOTÍPICOS NA HEMOFILIA	22
2.8.1 Tipo de mutação no gene do fator VIII	22
2.8.2 Adesão ao tratamento e fatores socioeconômicos	22
2.8.3 Desenvolvimento de inibidores	23
2.9 FATORES PRÓ-TROMBÓTICOS	25
2.9.1 Fator V de Leiden (FVL)	25
2.9.2 Protrombina mutante (PT G20210A)	26
2.9.3 Polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T)	27
3. OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4. METODOLOGIA	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32

5.1 FATOR V DE LEIDEN (G1691A)	32
5.2 PROTROMBINA MUTANTE (G20210A)	34
5.3 POLIMORFISMO DA METILENOTETRAHIDROFOLATO REDUTASE (MTHFR C677T)	35
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
APÊNDICE A	45

1. INTRODUÇÃO

A hemofilia A é uma doença de causa genética ligada ao cromossomo X, onde localiza-se o gene que codifica o fator de coagulação VIII (FVIII). De acordo com dados de 2021 publicados pela Federação Mundial da Hemofilia, a doença acomete 185.318 indivíduos, predominantemente do sexo masculino (81%). Devido à mutações no gene do FVIII na hemofilia A, há deficiência na produção desse fator, assim, a hemostasia secundária de pacientes hemofílicos do tipo A é prejudicada, não tendo formação suficiente de fator Xa para manutenção do processo hemostático, uma vez que a ativação do fator X depende do complexo tenase (IXa + VIIIa) (FERREIRA *et al.*, 2010).

Atualmente, a severidade da hemofilia é classificada de acordo com os níveis plasmáticos residuais do FVIII, podendo ser grave, moderada ou leve. Os pacientes hemofílicos sofrem com uma clínica hemorrágica que pode estar relacionada ou não a traumas. As principais manifestações clínicas hemorrágicas são as hemartroses que podem levar à sinovite e artropatia hemofílica e os hematomas musculares, além dos sangramentos no trato gastrointestinal e sistema nervoso central (BLANCHETTE *et al.*, 2014).

Entretanto, é visto que o fenótipo (manifestação visível ou detectável de um genótipo) dos pacientes considerados graves é heterogêneo, com hemofílicos graves apresentando quadros mais amenos ou mais severos de sangramentos. Desde 1995, foi levantado a hipótese de que a heterogeneidade clínica dos pacientes graves poderia estar relacionada a mutações em outros loci gênicos sem ser o gene do fator VIII. Nesse cenário, os fatores pró-trombóticos são mutações ou polimorfismos que aumentam a tendência à formação de trombos na circulação sanguínea e poderiam estar correlacionados com o abrandamento da clínica hemorrágica dos pacientes hemofílicos. Fisiologicamente, a herança de fatores pró-trombóticos poderia modificar o balanço trombo-hemorrágico, reduzindo as tendências hemorrágicas e melhorando o fenótipo hemofílico (IBRAHIM; AHMED, 2018). Elucidar se os fatores pró-trombóticos Fator V de Leiden, protrombina mutante (PTG20210A) e polimorfismo C677T no gene metilenetetraidrofolato redutase influenciam no perfil clínico da hemofilia A grave, pode ser um passo para mudanças futuras no manejo clínico, indo além dos níveis plasmáticos de FVIII como

critério a ser analisado, podendo proporcionar oportunidades para um acompanhamento mais individualizado com o objetivo de uma melhora na qualidade de vida dos pacientes.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Hemostasia

Os seres humanos, como animais vertebrados, têm sua circulação sanguínea fechada, ou seja, o sangue faz seu trajeto dentro de vasos sanguíneos (veias, artérias e capilares). A hemostasia é um conjunto de processos fisiológicos que impedem o extravasamento completo do sangue dos vasos sanguíneos, ou seja, atua protegendo o organismo em caso de lesões vasculares. Didaticamente, pode ser dividida em primária, secundária e fibrinólise (VAYNE; GRUEL; POUPLARD, 2021).

A hemostasia primária é composta pela interação do endotélio com as plaquetas. Quando um vaso sanguíneo é lesado, há contração local do endotélio, exposição do fator tissular e formação de tampão plaquetário para interromper o sangramento. Além disso, é necessário o fator de Von Willebrand, que atua possibilitando a adesão das plaquetas. Já a hemostasia secundária ocorre por meio de diversas reações químicas que ativam proteínas plasmáticas chamadas fatores de coagulação com a finalidade de transformar o fibrinogênio em fibrina. O mecanismo de coagulação pode ocorrer por duas vias: a via extrínseca e a intrínseca (FERREIRA *et al.*, 2010).

A via extrínseca ocorre quando o fator VII plasmático é ativado pelo fator tecidual, formando o complexo FVIIa/FT, responsável pela ativação do fator X. Já na via intrínseca, há ativação do fator XII quando há contato com superfícies de carga negativa, precisando também de outros componentes do plasma (pré-caliceína e cininogênio de alto peso molecular). O fator XII ativado ativa o fator XI que por sua vez, ativa o fator IX. O fator IX ativado em conjunto com íons cálcio e fator VIII ativado formam o complexo tenase que ativa o fator X. Ambas as vias se encontram no ponto de ativação do fator X, iniciando a via comum, onde o fator Xa interage com o fator Va para formação do complexo protrombinase que atua na transformação de protrombina em trombina e fibrinogênio em fibrina. A fibrina, por fim, estabiliza-se por meio de uma ligação ao fator XIII. A terceira e última parte da hemostasia é constituída pela degradação da fibrina pelo sistema fibrinolítico, com ação dos

anticoagulantes naturais como o fator inibidor da via do fator tecidual (TFPI), proteína C, proteína S e antitrombina. A fibrinólise ocorre para que não haja oclusão trombótica do vaso, limitando a coagulação (FERREIRA *et al.*, 2010)

2.2 Deficiência dos fatores de coagulação

Quando um ou mais fatores de coagulação estão deficientes ocorre o que é chamado de coagulopatia. Clinicamente, as coagulopatias caracterizam-se por eventos hemorrágicos espontâneos ou precipitados por trauma e podem ser passadas de pai para filho (hereditárias) ou adquiridas (REZENDE, 2010). Entre as coagulopatias hereditárias, as mais comuns são: doença de Von Willebrand, quando há deficiência do fator de Von Willebrand e as hemofilias quando há deficiência nos fatores VIII ou IX da coagulação (gerando, respectivamente a hemofilia A e hemofilia B).

2.3 Hemofilia A: fisiopatologia e aspectos epidemiológicos

A hemofilia A caracteriza-se pela deficiência no fator VIII devido à alterações genéticas no gene do fator VIII. No caso do paciente hemofílico A, a formação do complexo tenase (IXa + VIIIa) é prejudicada devido à ausência do fator VIII, não havendo a formação de fator Xa suficiente para sustentar o processo hemostático (BOLTON-MAGGS, PASI; 2003). A severidade da hemofilia A é baseada de acordo com os níveis plasmáticos de fator VIII, seguindo a seguinte lógica: <1% são considerados graves, moderados entre 1% e 5% e leves entre 6% e 40% dos valores considerados normais (BLANCHETTE *et al.*, 2014)

De acordo com a última pesquisa realizada pela Federação Mundial de Hemofilia, em 2021, foram reconhecidos o total de 233.577 pacientes com hemofilia, sendo 185.318 hemofílicos do tipo A e 37.998 hemofílicos do tipo B ao redor do mundo. Já o Brasil apresentou 13.337 hemofílicos, dos quais 11.141 são do tipo A e 2.196 do tipo B. Desse modo, pode-se dizer que há maior frequência da hemofilia A em relação à hemofilia B. Dentre os hemofílicos A houve a predominância em

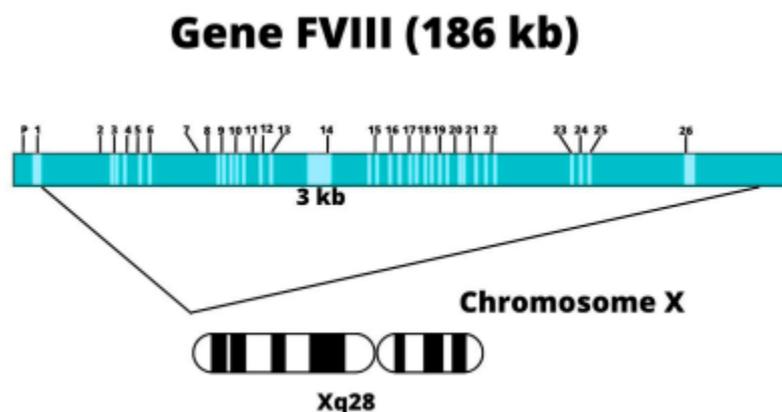
indivíduos do sexo masculino (81%).

2.4 Aspectos genéticos e moleculares da hemofilia A

Ligada ao cromossomo X, a hemofilia A acomete principalmente indivíduos que recebem como designação de sexo masculino ao nascer (indivíduos XY), isso porque indivíduos XY precisam apenas do cromossomo X afetado para apresentar a doença (hemizigose), enquanto indivíduos XX precisam de ambos os cromossomos afetados para apresentar a doença (homozigose), tendo a possibilidade de ser apenas portador do alelo afetado em caso de heterozigose (PIO; OLIVEIRA; REZENDE, 2009).

O gene do fator VIII (FVIII) situa-se próximo à extremidade do braço longo do cromossomo X (Xq28), sendo composto por 26 éxons e 25 íntrons. Toda sequência do gene corresponde a 0,1% do cromossomo X (figura 1).

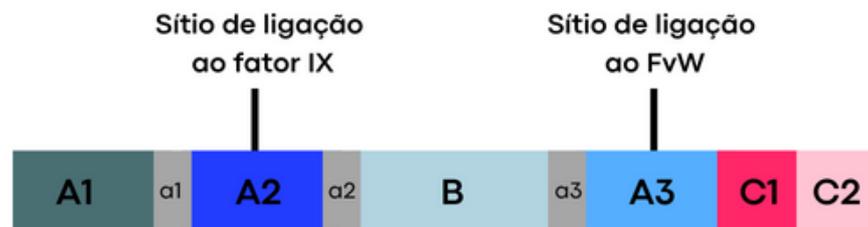
Figura 1 - Gene do fator VIII, com seus 26 éxons e sua localização no cromossomo X.



Fonte: Doncel, Mosquera, Cortes, Rico, Cadavid e Peláez (2023)

A proteína resultante do gene chamado de fator VIII da coagulação e é produzido no fígado e nas células endoteliais. É composta por uma região triplicada de A1A2A3, uma região duplicada C1C2 e um domínio B, que é removida quando o fator é ativado pela trombina (VEHAR *et al.*, 1984). Na circulação, o FVIII é carregado e estabilizado pela ligação com o Fator de Von Willebrand ao domínio A3. Quando ativado, o FVIII libera o fator de von Willebrand e para formação do complexo tenase há a ligação do fator IXa em seu domínio A2 (figura 2).

Figura 2 - Composição estrutural do fator VIII (FVIII) da coagulação.



Fonte: Autoria própria.

Atualmente, o banco mais representativo das variedades genéticas do fator VIII é o *HAMSTeRS* e atualmente lista mais de 1.000 tipos de variações associadas à hemofilia A, envolvendo substituições, deleções e inserções distribuídas por todo gene do fator VIII. Há alta heterogeneidade de variações moleculares associadas à hemofilia A, entretanto, as mutações mais significativas que estão associadas à pacientes hemofílicos A graves são a inversão do íntron 22 e inversão do íntron 1, estando presente em 50% em e 5% dos hemofílicos A graves, respectivamente (ANDROVICS *et al.*, 2003).

2.5 Manifestações clínicas da hemofilia

As hemofilias se caracterizam por manifestações hemorrágicas e clinicamente não há como diferenciar o paciente com hemofilia A do paciente que tem hemofilia B. As ocorrências hemorrágicas podem surgir espontaneamente ou após trauma. (MOAKE, 2018; BRASIL, 2015).

2.5.1 Hemartrose

A hemartrose é um sangramento que ocorre no interior das articulações ou dentro das cavidades sinoviais e constitui a manifestação mais comum dos hemofílicos, principalmente os hemofílicos gravemente acometidos (figura 3). As articulações mais acometidas geralmente são: joelhos, cotovelos, tornozelos, coxofemorais e punho (FRIEDMAN; ROGERS, 2008). As hemartroses frequentes causam uma degeneração articular, chamada de artropatia hemofílica. Isso ocorre devido aos produtos da degradação do sangue ultrapassarem a capacidade de

reabsorção da membrana sinovial, em especial o ferro e a hemossiderina, que induzem a produção de citocinas inflamatórias no tecido sinovial. Esse sintoma altera a qualidade de vida do paciente, que pode ter seu movimento articular diminuído ou perdido (CHAVES *et al.*, 2021).

Figura 3 - Hemartrose crônica em joelho direito



Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2011.

2.5.2 Sinovite

Hemorragias intra-articulares frequentes causam a deposição de ferro (hemossiderina) na membrana sinovial e na cartilagem articular. Esse acúmulo de hemossiderina induz a hipertrofia sinovial, infiltração de linfócitos produtores de citocinas inflamatórias e neovascularização da camada subsinovial. Esse quadro faz parte de um ciclo vicioso, uma vez que a sinovite predispõe o paciente a novas injúrias e sangramentos, gerando mais hipertrofia sinovial e neovascularização. A cartilagem articular, os ossos e ligamentos também são prejudicados, uma vez que o depósito de ferro contribui para destruição desses tecidos. Clinicamente a sinovite hemofílica se caracteriza por um aumento do volume articular (figura 4) e consistência mole (BRASIL, 2015).

Figura 4 - Sinovite em cotovelo



Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2011.

2.5.3 Artropatia hemofílica

Como consequência da sinovite, inicialmente há uma hipervascularização da área que acarretará hemorragias frequentes. De modo secundário, a presença de sangue na cavidade articular gera hipercrecimento das epífises ósseas, osteoporose e degeneração cartilaginosa com posterior substituição por tecido fibroso (figura 5). Clinicamente há hipotrofia muscular, perda da mobilidade articular e deformidade nas articulações (CHAVES *et al.*, 2021).

Figura 5 - Artropatia hemofílica em ambos os joelhos



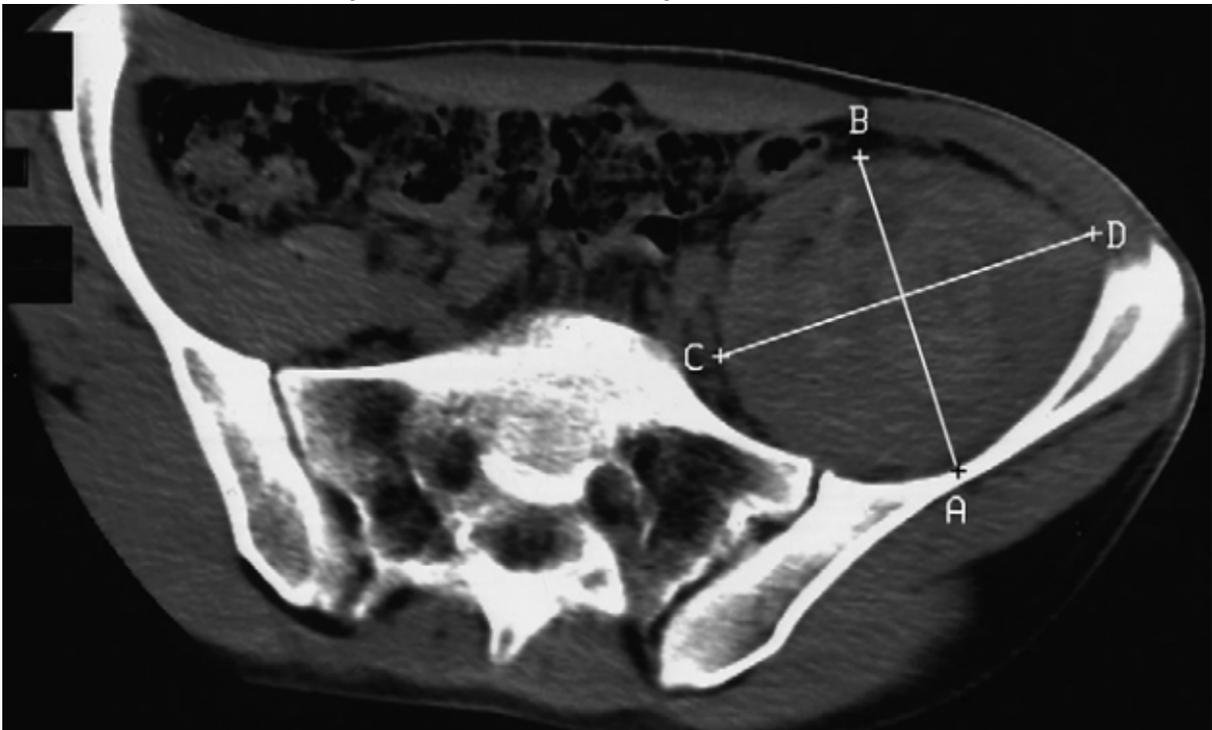
Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2011.

2.5.4 Hematomas musculares

Gerados pelo sangramento nos músculos, os hematomas musculares são a segunda causa de sangramento entre os hemofílicos. São autolimitados quando atingem uma pequena região, mas em pacientes gravemente acometidos os hematomas podem estender-se em todas direções, comprimindo estruturas nobres como os nervos. (BOLTON-MAGGS; PASI, 2003).

Nas extremidades superiores os hematomas musculares atingem preferencialmente os músculos da porção anterior do antebraço. Na extremidade inferior, os músculos mais afetados são íleo-psoas (figura 6), gêmeos e quadríceps. As fibras necrosadas são substituídas por tecido conjuntivo fibroso, reduzindo a elasticidade do músculo (RODRIGUEZ-MERCHAN, 2011). O sangramento permanece até que a pressão intramuscular se iguale a pressão intravascular dos vasos sanguíneos lesados. Em casos onde a quantidade de sangue extravasado é grande, o corpo pode não conseguir reabsorver tudo, o hematoma é encapsulado, podendo gerar o pseudotumor hemofílico que pode invadir estruturas vizinhas. Os hematomas também podem infeccionar, gerando abscesso, além de lesionar nervos periféricos. (BRASIL, 2011).

Figura 6 - Tomografia computadorizada com extenso hematoma muscular na região do iliopsoas direito, delineado pelas letras ABCD.

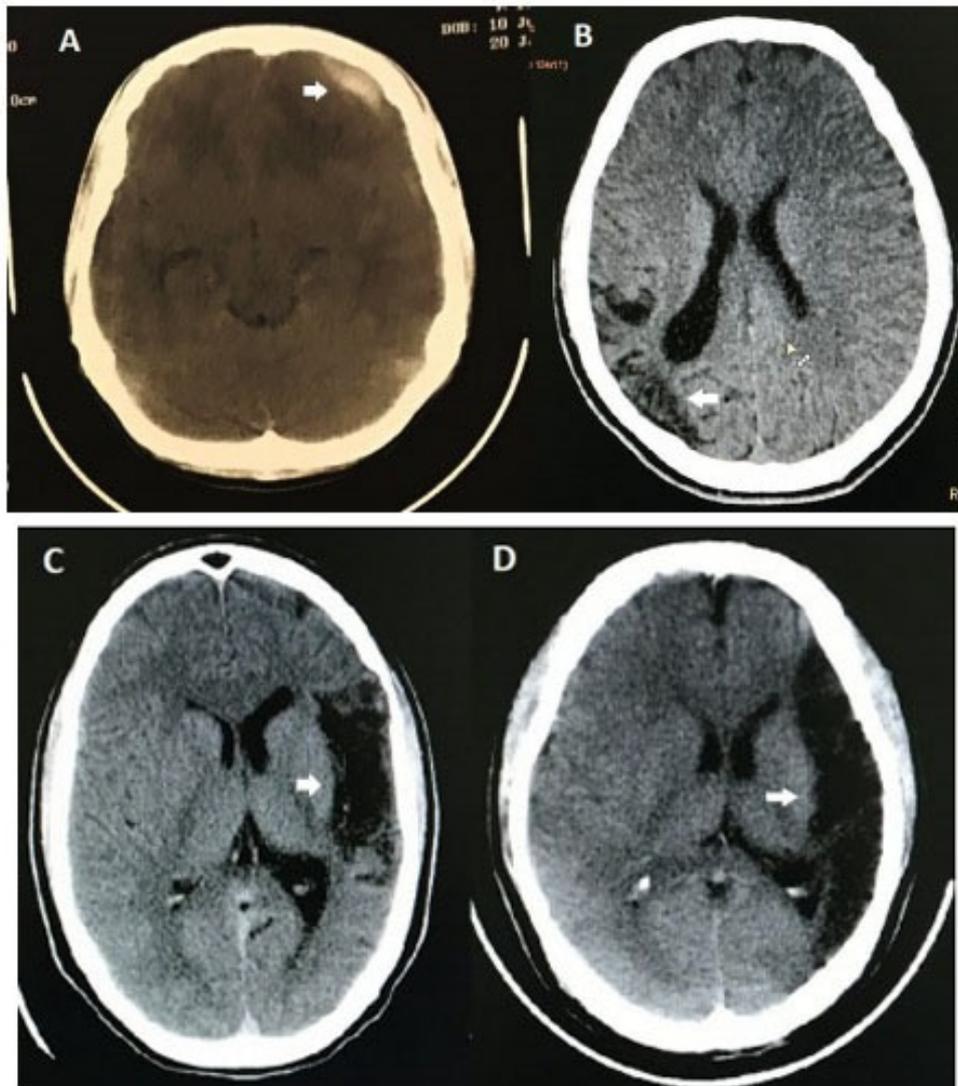


Fonte: Dauty, Sigaud, Trossaërt, Fressinaud, Letenneur e Dubois (2007)

2.5.5 Sangramentos no trato gastrointestinal e sistema nervoso central

Os sangramentos do trato gastrointestinal (TGI) podem ocorrer em hemofílicos através de hematêmese e/ou melena. É necessário investigar os quadros pois esse sangramento pode vir de uma lesão anatômica, como uma úlcera péptica ou gastrite, que é frequente na população hemofílica. Já o sangramento intracraniano é um dos mais perigosos eventos hemorrágicos para o paciente, que pode ocorrer tanto espontaneamente ou após traumas e ter complicações neurológicas graves, podendo acometer grandes áreas do cérebro (figura 7). Todo hemofílico com cefaléia não habitual, especialmente se intensa ou após 4 horas sem melhora, deve ser investigado para presença de sangramento intracraniano (BRASIL, 2015).

Figura 7 - Imagens de tomografia computadorizada mostrando sangramentos no sistema nervoso central em hemofílicos A.



Fonte: Fernandes, Gondim, Dias, Ribeiro, Ferreira Filho e Pinto (2021). A área acometida está sinalizada pelas setas brancas. A: hematoma frontal subdural; B: hematoma parietal subdural crônico; C: severo hematoma temporo-parietal crônico; D: severo hematoma subdural crônico no hemisfério esquerdo.

2.6 Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial das hemofilias inicia-se com os testes de triagem TP (tempo de protrombina) e TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativada). Para diferenciação das hemofilias A e B, e classificação em grave, moderada ou leve, é necessário fazer a dosagem de fator VIII e IX.

2.6.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado - TTPA

O TTPA é o teste de triagem para avaliação dos fatores da via intrínseca da coagulação e via comum. Consiste na recalcificação do plasma na presença de fosfolípido e ativador do sistema de contato. No diagnóstico da hemofilia, o paciente terá seu TP inalterado, uma vez que ele avalia a via extrínseca, mas haverá alteração anormal do TTPA tanto na hemofilia A quanto na hemofilia B (deficiência de fator VIII e IX, respectivamente) (BRASIL, 2015).

2.6.2 Dosagem específica de fatores

Para que o paciente seja diagnosticado acuradamente é necessário fazer a dosagem dos níveis de fator VIII e fator IX para classificação de hemofilia A ou B. Para avaliação desses fatores dois métodos estão disponíveis: o método de um estágio (coagulométrico) e o método cromogênico. Para a hemofilia A o método mais recomendado é o método cromogênico, que tem maior sensibilidade em comparação com o método de um estágio (BRASIL, 2016)

O método coagulométrico consiste em misturar o plasma teste com um plasma deficiente da proteína de interesse, FVIII ou FIX e em seguida é realizado um TTPA. O valor obtido no TTPA reflete o quanto o plasma teste fornece de fator para correção do plasma deficiente. Este método é mais amplamente utilizado devido ao seu menor custo (BRASIL, 2016).

O método cromogênico consiste inicialmente em misturar o plasma do paciente com os fatores IXa, FX, trombina, cálcio e fosfolípido. O fator VIII do paciente fará parte da formação do FXa, o qual terá sua atividade mensurada por adição de um substrato cromogênico. A coloração produzida será proporcional à quantidade de fator VIII na amostra do paciente (POTGIETER; DAMGAARD; HILLARP, 2015). Atualmente a severidade da hemofilia A é classificada de acordo com os níveis plasmáticos do fator VIII (FVIII), sendo grave se os níveis forem < 1%, moderada entre 1% e 5% e leve entre 6% a 40% de fator (BLANCHETTE *et al*, 2014.)

2.6.3 Diagnóstico diferencial

É importante salientar que dentre as coagulopatias com TTPa prolongado e TP normal a doença de Von Willebrand deve ser considerada como diagnóstico diferencial para a hemofilia A, além da deficiência de fator XI e XII, consideradas mais raras (tabela 1).

Tabela 1 - Diagnóstico diferencial das principais coagulopatias com TTPa prolongado e TP normal.

Testes de laboratório		Fator deficiente/Diagnóstico
TTPa prolongado TP normal	Dosagem fator VIII	FVIII / hemofilia A
	Dosagem fator IX	FIX / hemofilia B
	Dosagem fator XI	FXI
	Dosagem fator XII	FXII
	Dosagem de FVW:RCo e FVW:Ag [•]	FVW / DVW

Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2015. Abreviações: TTPa: Tempo de tromboplastina parcial ativado; TP: tempo de protrombina; FVW: Fator de Von Willebrand; RCo: Cofator ristocetina; Ag: Antígeno de von Willebrand; DVW: Doença de Von Willebrand.

2.7 Tratamento

O pilar principal do tratamento da hemofilia é a reposição de fator deficiente por meio do concentrado de fatores. Esse concentrado pode ser produzido de duas formas: fracionamento do plasma humano (hemoderivado) ou por meio de engenharia genética (produtos recombinantes).

Os concentrados de fatores derivados do plasma do sangue humano é um produto seguro atualmente, devido às técnicas de inativação viral, purificação e diagnóstico. Eles podem ser estratificados de acordo com seu grau de pureza (intermediária, alta, ultra-alta) e passam por processos de precipitação proteica, cromatografia e anticorpos monoclonais. Já os produtos recombinantes são feitos a partir de técnicas de biologia molecular e podem ser estratificados de acordo com a adição de outras substâncias biológicas. Os de primeira geração tem adição de albumina humana para estabilização do produto, os de segunda geração são estabilizados por algum tipo de glicose, sem adição de qualquer proteína humana em sua composição. Os fatores de terceira geração são isentos de proteínas humanas ou animais em sua síntese e produção (BRASIL, 2015).

Todo tratamento que envolva os fatores de coagulação é chamado de tratamento de reposição e pode ser dividido em duas modalidades: sob demanda ou profilático. No tratamento sob demanda o concentrado de fatores é administrado após a ocorrência de um episódio hemorrágico, enquanto o profilático consiste em administração de concentrado de forma contínua com o objetivo de prevenir episódios de sangramento. É visto que o tratamento profilático seria melhor para os pacientes hemofílicos, levando em consideração a taxa anual de sangramentos (MIESBACH *et al.*, 2020). A Federação Mundial de Hemofilia em sua última *guideline* de manejo da doença publicada em 2020 enfatiza que o tratamento sob demanda (episódico) não deve ser considerado uma opção de tratamento a longo prazo (SRIVASTAVA *et al.*, 2020).

É importante salientar que a RDC nº 23, publicada em 24 de Janeiro de 2002 (BRASIL, 2002) proíbe a utilização de crioprecipitado para tratamento de reposição em hemofílicos e pacientes com doença de Von Willebrand, sendo permitidos

apenas em situação de inexistência de concentrados de fator. Ademais, os fármacos acetato de desmopressina e antifibrinolíticos são também utilizados em pacientes hemofílicos quando há episódios hemorrágicos que precisam ser controlados.

2.8 Moduladores fenotípicos na hemofilia

2.8.1 Tipo de mutação no gene do fator VIII

O tipo de mutação no gene que codifica o fator VIII irá determinar a quantidade plasmática residual do FVIII. Mutações que comprometem a síntese da proteína, as chamadas mutações nulas, irão afetar mais severamente os níveis plasmáticos do fator VIII. Essas mutações nulas são consideradas, por exemplo, inversões, grandes deleções e mutações *nonsense*. Tendo isso em vista, é possível entender porque os pacientes de clínica severa estão associados às inversões dos íntrons 22 e 1. Em contraponto, os pacientes hemofílicos A graves que apresentam mutações não nulas (por exemplo: pequenas deleções ou inserções) tendem a um fenótipo hemorrágico abrandado (FRANCHINI; MANNUCCI, 2017).

2.8.2 Adesão ao tratamento e fatores socioeconômicos

Uma das principais questões que influenciam o quadro do paciente é a aderência ao tratamento de reposição de fator, uma vez que com o tratamento sendo feito de modo adequado, melhor será a qualidade de vida do paciente. Entretanto, a adesão ao tratamento pode ser difícil em crianças pequenas e em idosos (DUTREIL; RICE; LEISSINGER, 2007). O nível de entendimento do paciente sobre a hemofilia também está relacionado ao maior risco de não aderência ao tratamento ou demora para procura de tratamento. É visto que os pacientes, tanto crianças quanto adultos, podem esconder os sangramentos para evitar o tratamento até que as dores se tornem insuportáveis. A ansiedade e medo da punção venosa também é comumente relacionada à dificuldade em adesão do tratamento (REMOR, 2011).

A Federação Mundial de Hemofilia (WFH) estima que apenas 25% dos pacientes hemofílicos têm tratamento adequado. No Brasil, é importante salientar

que o Ministério da Saúde fornece gratuitamente os concentrados de fatores para qualquer hemofílico brasileiro, não sendo um custo para o paciente e é tido como terceiro melhor país da América Latina em relação ao índice de uso *per capita* do concentrado de fator, atingindo 4,4UI/ano. O índice é interpretado da seguinte forma: o índice de uso de concentrado per capita por ano menor que 1 UI é considerado insuficiente para garantir a sobrevivência dos pacientes. É necessário, pelo menos, 3 UI *per capita*/ano para um bom tratamento com melhores chances de melhora clínica (FEDERAÇÃO MUNDIAL DE HEMOFILIA, 2021).

É estimado que no Brasil, 85% a 90% dos pacientes hemofílicos sejam de baixa renda, tendo dificuldades no transporte para o hemocentro onde recebe tratamento, além de altas taxas de desemprego e desistência escolar devido aos efeitos agudos e crônicos da doença. Além desse fator, onde você reside no Brasil também tem efeitos sobre seu tratamento, como é visto na disparidade de utilização de fator em no Distrito Federal onde o uso per capita de fator é de 7,22 e em Roraima, onde ele atinge 0,27 UI (BRASIL, 2014).

2.8.3 Desenvolvimento de inibidores

A formação de inibidores diz respeito à resposta imune humoral contra o fator VIII, acometendo 25% de hemofílicos A grave e de 5% a 15% os hemofílicos leves ou moderados que recebem como tratamento a reposição de fator VIII recombinante ou purificado de plasma (DE BIASI, 1994). Os inibidores são imunoglobulinas do tipo IgG que atuam neutralizando a atividade pró coagulante do fator VIII por meio do bloqueio funcional de epítomos da proteína, e embora o mecanismo de desenvolvimento dos inibidores não esteja tão claro, a ocorrência de inibidores reflete a resposta imune frente à exposição frequente a proteína exógena dos concentrados de fator. O desenvolvimento de inibidores (DI) é um dos principais desafios terapêuticos para pacientes hemofílicos do tipo A que desenvolvem hemorragias (PIO; OLIVEIRA; REZENDE, 2009).

Dentre os fatores que influenciam o desenvolvimento de inibidores há o tipo de mutação no gene do fator VIII. Pacientes com grandes deleções, inversões ou mutações sem sentido são os mais favoráveis a desenvolver inibidores contra o fator

VIII, uma vez que a ausência do fator na circulação sanguínea não possibilita o desenvolvimento de tolerância imunológica (SCHWAAB, 1995). Outros fatores também são importantes, como raça, fatores ambientais e predisposição genética (BRASIL, 2015).

Os inibidores atuam significativamente na piora do aspecto clínico do paciente, estando associado a sangramentos mais recorrentes e mais difíceis de serem tratados, gerando também mais quadros de dor e morbidade. Os pacientes também tendem a faltar mais no trabalho e escola e precisam de mais tempo de hospitalização (MORFINI, 2008, EWIG, 2015). O desenvolvimento de inibidores está relacionado a causas como: histórico de DI na família, etnia (raça negra), defeito molecular de alto risco, polimorfismos do sistema imune (interleucina 10, fator de necrose tumoral alfa). Os fatores ambientais associados são: tipo de concentrado que o paciente recebe, idade da primeira exposição ao fator, intensidade do tratamento entre outros (KEMPTON; WHITE, 2009).

O tratamento dos pacientes que apresentam inibidores envolve dois pilares principais: erradicação do inibidor por meio do tratamento de indução de imunotolerância (TI) e tratamento do sangramento ativo e/ou prevenção. A IT consiste em dessensibilizar o sistema imunológico do paciente com infusões regulares, frequentes e prolongadas ao FVIII e deve ser priorizada como principal tratamento para esses pacientes. Já para tratamento e prevenção de sangramentos ativos em hemofílicos com inibidores de alta resposta, agentes *bypassing* são utilizados, que são o concentrado de complexo protrombínico parcialmente ativado (CCPa) e o concentrado de fator FVII recombinante ativado (FVIIa-r). Em pacientes com inibidores de baixa resposta pode ser utilizado maiores dosagens do FVIII para neutralização do inibidor e controle do sangramento, assim como em pacientes com inibidores de baixa alta resposta mas baixa titulação dos inibidores (BRASIL, 2022).

2.9 Fatores pró-trombóticos

Os fatores pró trombóticos (FPT) podem ser classificados como variações em determinados genes que irão propiciar a trombofilia, ou seja, a formação de trombos (coágulos). Desde o primeiro estudo em 1996, foi elucidada a hipótese de que a trombofilia em pacientes com hemofilia poderia ser um fator modulador de fenótipo. Fisiologicamente, a herança de FPT modificaria o balanço trombo-hemorrágico, reduzindo as tendências hemorrágicas e melhorando o fenótipo hemofílico (IBRAHIM; AHMED, 2018). Desde então, além dos fatores conhecidos que interferem na clínica do paciente como o tipo de mutação no FVIII, os FPT são estudados em pacientes hemofílicos para elucidação de uma provável relação positiva com o balanço trombo-hemorrágico.

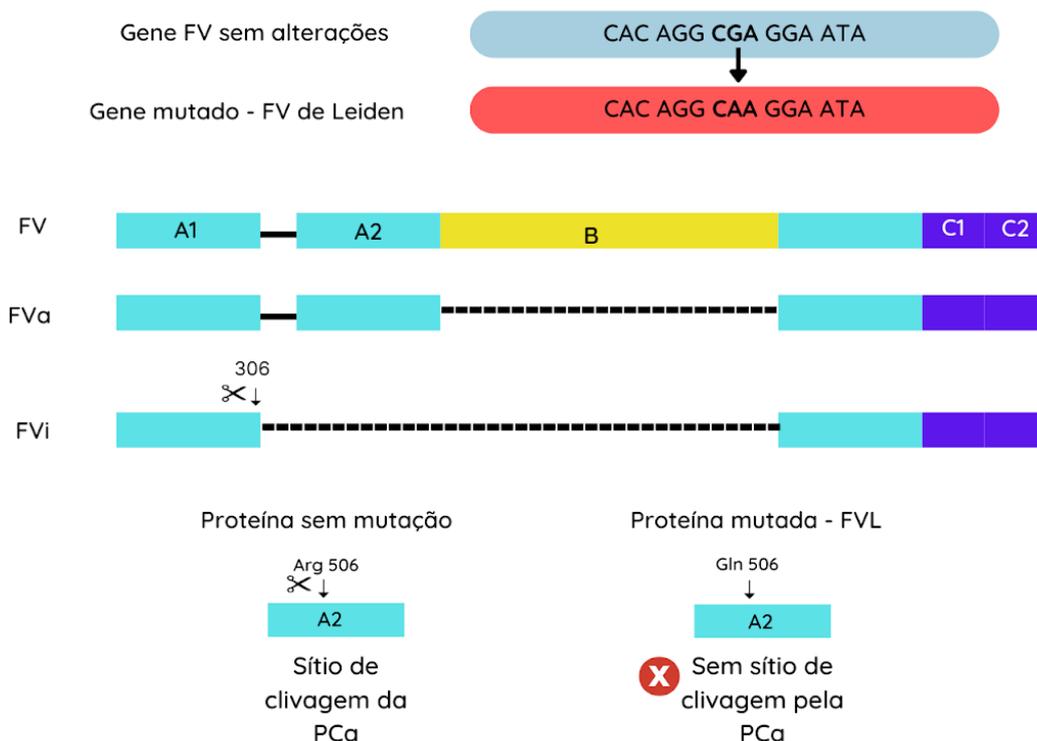
2.9.1 Fator V de Leiden (FVL)

O gene do fator V da coagulação está localizado no braço longo do cromossomo 1, na banda 23 (1q23) e é composto por 25 éxons e 24 íntrons. A sua estrutura é composta por três domínios A1A2A3 um domínio B e dois domínios C1 e C2, semelhante ao fator VIII (DUGA; ASSELTA; TENCHINI, 2004).

O Fator V de Leiden foi descoberto em 1994 e é o mais importante fator genético associado ao desenvolvimento de trombose venosa. Decorre de uma mutação de caráter autossômico dominante, pela troca de uma guanina por uma adenina no nucleotídeo 1691 do éxon 10 do fator V da coagulação, resultando em uma troca de uma arginina na posição 506 por uma glutamina (R506Q) (MOREIRA, 2008).

Durante o processo da hemostasia, o fator V ativado (FVa) é inativado pela proteína C ativada (PCa) em conjunto com a proteína S por intermédio da clivagem nos resíduos das posições 306 e 506. A troca de um aminoácido (arginina) para outro (glutamina) no fator V inibe essa inativação (figura 8), levando a uma resistência do FVa à ação da PCa com consequente acúmulo do fator Va e aumento do risco de trombose.

Figura 8 - Representação do gene do fator V sem e com mutação, com troca de uma guanina por uma adenina na posição 1691.



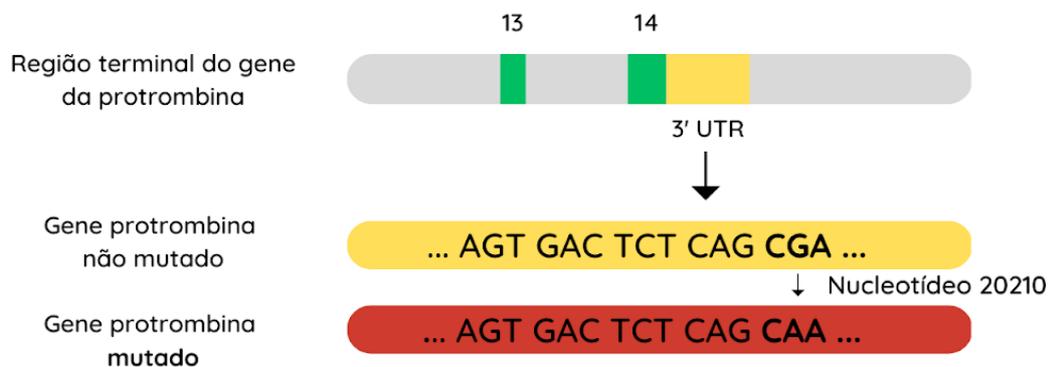
Fonte: Autoria própria. O FVa tem sua estrutura com a ausência do domínio B. A mutação altera o sítio 506 de clivagem do fator V pela PCa, com troca de uma arginina por uma glutamina, e aumenta a resistência contra inativação pela proteína C ativada.

2.9.2 Protrombina mutante (PT G20210A)

O fator Xa em conjunto com o fator Va forma o complexo protrombinase, que tem por função converter a protrombina em trombina. A trombina, por sua vez, é a responsável pela clivagem do fibrinogênio em monômeros de fibrina (FERREIRA *et al.*, 2010). A mutação da protrombina foi primeiramente relatada por Poort *et al.* em 1996 e é a mutação mais comum após o FVL, sendo uma mutação puntiforme (G20210A) na região terminal do gene da protrombina (PT), localizado no cromossomo 11. A troca do nucleotídeo guanina por adenina na posição 20210 (figura 9) acarreta o aumento dos níveis plasmáticos de protrombina e eleva o risco de trombose. Apesar de não alterar a estrutura da protrombina nem sua função, essa mutação já foi associada ao aumento dos níveis de protrombina, cerca de $\frac{1}{3}$ acima do normal. Além disso, a protrombina G20210A leva à uma expressão

aumentada do mRNA e expressão proteica da protrombina (CEELIE, SPAARGAREN-VAN; BERTINA; VOS, 2004).

Figura 9 - Representação da mutação na região 3' UTR (não traduzida) com troca do nucleotídeo guanina por adenina na posição 20210. Regiões verdes representam os éxons do gene.



Fonte: Autoria própria.

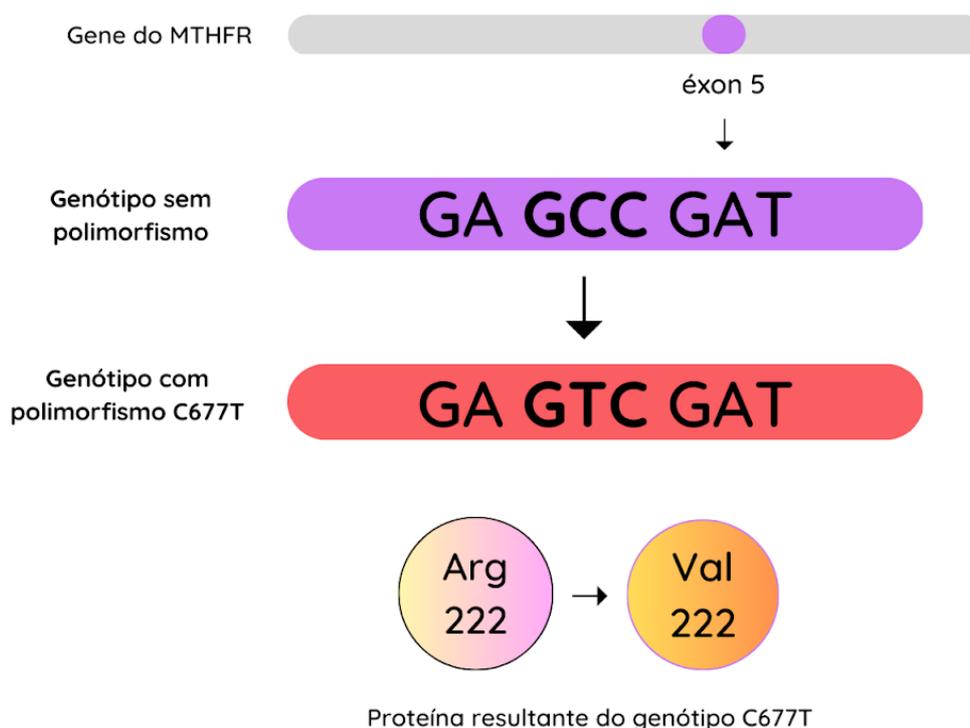
2.9.3 Polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T)

A 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase é uma enzima produzida pelo gene MTHFR localizado no braço curto do cromossomo 1, banda 36 e sub-banda 3 (1p36.3). O produto do gene MTHFR é uma enzima folato-dependente chamada de metilenotetrahidrofolato redutase que além de atuar nos processos de metilação do DNA, converte 5,10-metilenotetrahidrofolato em 5-metiltetrahidrofolato que é doador de grupo metil para transformação de homocisteína em metionina, estando inserida no metabolismo do folato (GOYETTE et al, 1995).

O polimorfismo mais comum da MTHFR é o MTHFR C677T, no qual ocorre uma substituição de uma citosina por uma timina na posição 677, gerando a metileno tetrahidrofolato redutase termolábil, uma enzima com apenas 50% de sua atividade. Como consequência do polimorfismo, o aminoácido de posição 222 alanina é substituído por valina (figura 10). Esse polimorfismo de um único nucleotídeo acarreta a termoestabilidade da enzima, a qual tem sua atividade diminuída em temperaturas $\geq 37^{\circ}\text{C}$ (LIEW; GUPTA, 2015). Desse modo, essa mudança estaria associada a uma menor atividade da enzima em conjunto com níveis elevados de homocisteína, sendo acumulada no organismo. A homocisteína

acumulada se auto oxida, gerando espécies reativas de oxigênio. Assim, teria-se uma lesão endotelial vascular e geração de uma superfície pró-trombótica (NEVES; MACEDO; LOPES, 2004). A hiperhomocisteinemia, por sua vez, seria um fator de risco para doenças cardiovasculares devido ao aumento do risco de trombose. (GRAHAM; DALY; REFSUM; ROBINSON K *et al.* 1997). Entretanto, ao contrário do fator V de Leiden e protrombina mutante, artigos recentes sugerem que o MTHFR não deve ser considerado um fator que determine a trombofilia. Em países onde a suplementação de folato é rotineira, o polimorfismo não está associado ao aumento dos níveis de homocisteína (DELOUGHERY *et al.*, 2022).

Figura 10 - Representação do polimorfismo C677T, que ocorre no éxon 5 do gene MTHFR. A troca resulta na mudança de uma arginina 222 por uma valina.



Fonte: Autoria própria.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Analisar, por meio de uma revisão bibliográfica, os possíveis efeitos moduladores dos fatores pró-trombóticos nos sintomas clínicos de pacientes hemofílicos do tipo A.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão sistemática da literatura sobre a relação entre os fatores pró-trombóticos correlacionando-os ao quadro clínico dos pacientes hemofílicos;
- Descrever os principais resultados obtidos em relação ao abrandamento do fenótipo hemofílico associado aos fatores pró-trombóticos Fator V de Leiden, PT G20210A e MTHFR C677T.
- Determinar a frequência dos fatores pró-trombóticos estudados nas populações hemofílicas.

4. METODOLOGIA

Para a revisão sistemática foi executada uma pesquisa bibliográfica transversal nos meios eletrônicos PubMed, Google Scholar e Lilacs. A busca teve como palavras chaves: “MTFHR C677T”, “FVL”, “PT G20210A”, “haemophilia”, “phenotype”, “prothrombotic factors” com adaptações a fim de ampliar a busca por artigos em cada plataforma de dados.

No total, foram encontrados 53 artigos. Os 53 artigos tiveram seus títulos e resumos lidos, com posterior exclusão de duplicatas, revisões bibliográficas, estudos de casos clínicos e os que não condiziam com o tema proposto.

Durante a leitura dos artigos completos, foi realizada uma análise quanto ao atendimento aos seguintes critérios: artigos que pesquisaram algum dos três fatores pró-trombóticos desejados (FVL G1691A, PT G20210A e MTHFR C677T) em hemofílicos A e B e que correlacionaram a presença dos fatores pró-trombóticos com os aspectos clínicos dos pacientes. Dentre os artigos selecionados que tiveram pacientes do tipo A e do tipo B, priorizou-se observar os resultados dos pacientes do tipo A.

Figura 11 - Fluxograma utilizado para seleção dos artigos

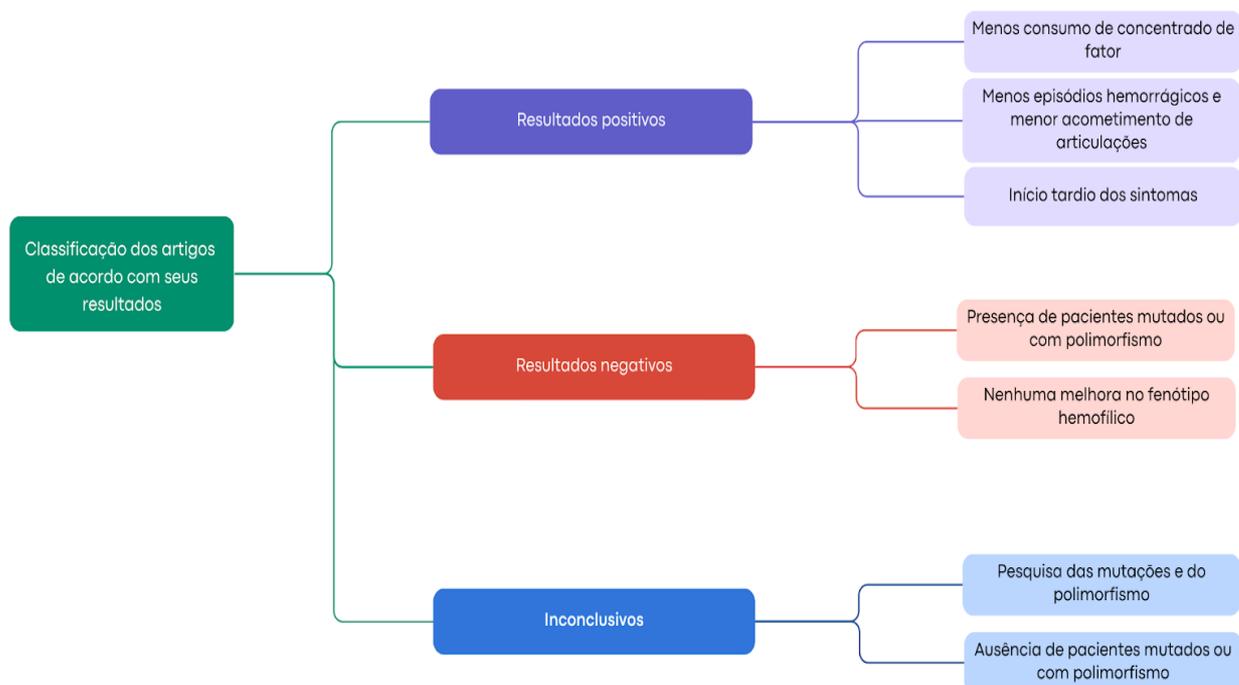


Fonte: Autoria própria.

Ao fim, foram selecionados 19 artigos, estando dentro do período de 1995 até 2018 (figura 11). Para análise dos artigos, os resultados foram inseridos em três classificações: resultados positivos, resultados negativos e resultados inconclusivos. Foram classificados como resultados positivos os artigos que encontraram alguma

das mutações ou polimorfismos relacionando-os com pelo menos um dos seguintes fatores: menor consumo de concentrado de fator VIII, menos episódios hemorrágicos, menor acometimento das articulações e/ou início tardio dos sintomas. Já para a classificação em resultados negativos, os estudos obtiveram pacientes mutados ou com polimorfismo, mas sem qualquer melhora clínica relacionada a estes marcadores. Por fim, para classificação como inconclusivo estudos em que as mutações e polimorfismo foram pesquisados mas não estavam presentes em nenhum paciente analisado, conforme mostrado na figura 12.

Figura 12 - Fluxograma da classificação dos artigos de acordo com seus resultados para discussão



Fonte: Autoria própria.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados dos artigos selecionados estão apresentados no apêndice A (tabela A1), e são objetos da discussão deste trabalho.

5.1 Fator V de Leiden (G1691A)

Nichols *et al.* (1996) em um estudo com 6 pacientes hemofílicos A moderados e graves teve um resultado de associação positiva entre a mutação do FVL e a clínica dos pacientes. Os pacientes com a mutação do FVL apresentaram menor gravidade de episódios hemorrágicos em comparação com os pacientes sem a mutação. Lee *et al.* (2000) em um estudo com 137 hemofílicos A graves identificou 6 portadores do FVL, nos quais pôde ser verificado um menor consumo de concentrado de fator e menos episódios hemorrágicos quando comparado com pacientes não mutados para o FVL. Halimeh *et al.* (2001) estudando 92 PHA, encontrou a mutação FVL em 6 pacientes e correlacionou com a apresentação mais tardia do primeiro episódio hemorrágico (1,6 anos para os mutados com FVL e 0,9 anos para os não mutados). O início mais tardio de manifestações clínicas hemorrágicas também foi encontrado por Nowak-Gottl *et al.* (2003) e López-Jiménez *et al.* (2009). Além disso, o autor López-Jiménez também associou o FVL com menos episódios de sangramento (Figura 13).

Ghosh *et al.* (2001) conduziu um estudo com 11 pacientes hemofílicos A graves com clínica leve, encontrando um heterozigoto para FVL com clínica branda enquanto outro paciente com mesma mutação no gene do fator VIII, mas sem a mutação FVL, apresentava clínica grave, sugerindo algum efeito protetor da mutação em questão. Resultados positivos também foram encontrados para redução da severidade de eventos hemorrágicos (consumo de fator e número articulações acometidas pela doença) e na severidade da artropatia hemofílica nos estudos de Grunewald *et al.* (2002) e Kurnik *et al.* (2007).

Hamdy *et al.* (2016) observou que em pacientes heterozigotos para FVL, o quadro clínico se mostrou leve ou moderado, mas nunca grave. Em seu estudo, houve falta de significância estatística quando considerado as mutações isoladamente (FVL e PT), mas sugeriu que pacientes mutados concomitantemente para FVL e PT têm melhora clínica significativa. Shetty *et al.* (2007) dividiu seu

estudo em dois subgrupos, sendo um de clínica leve e outro de clínica grave. Dentre os de clínica leve, foram encontrados 4 pacientes com a mutação FVL (4/35), enquanto no grupo de clínica grave, apenas um paciente com FVL foi encontrado (1/37), observando que a prevalência de fatores pró-trombóticos em pacientes com clínica mais amena é maior do que em pacientes com clínica grave.

Figura 13 - Prevalência dos resultados de associação positiva, negativa e inconclusiva sobre a correlação entre presença da mutação Fator V de Leiden e o fenótipo hemofílico.

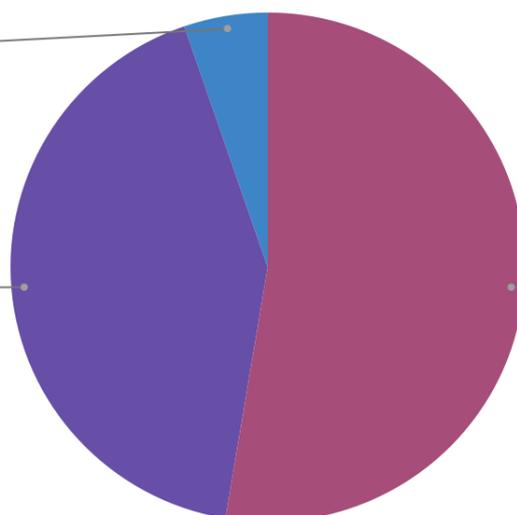
Fator V de Leiden

Total de 19 artigos

Inconclusivos
5,3%

Negativos
42,1%

Positivos
52,6%



Fonte: Autoria própria.

Arbini *et al.* (1995) em seu estudo encontrou apenas um paciente hemofílico do tipo B sem qualquer melhora clínica. Petkova *et al.* (2001), Mikovic *et al.* (2018), Sanna *et al.* (2008) e Araújo *et al.* (2003) apesar de terem encontrado pacientes mutados para FVL, não obtiveram sinais de correlação positiva do FVL com a melhora clínica dos pacientes. Tizzano *et al.* (2002) conduziu um estudo com 265 indivíduos de clínica moderada e grave, encontrando apenas dois pacientes com FVL, sendo um concomitantemente mutado para protrombina, não sendo possível uma análise acurada dos efeitos do FVL isoladamente. Alguns estudos falharam em encontrar pacientes mutados para o fator V de Leiden, como Gurkan (2005), Beltran-Miranda *et al.* (2005) e Ahmed *et al.* (2003), não sendo possível a correlação dessa mutação com o aspecto clínico da hemofilia, sendo considerados inconclusivos.

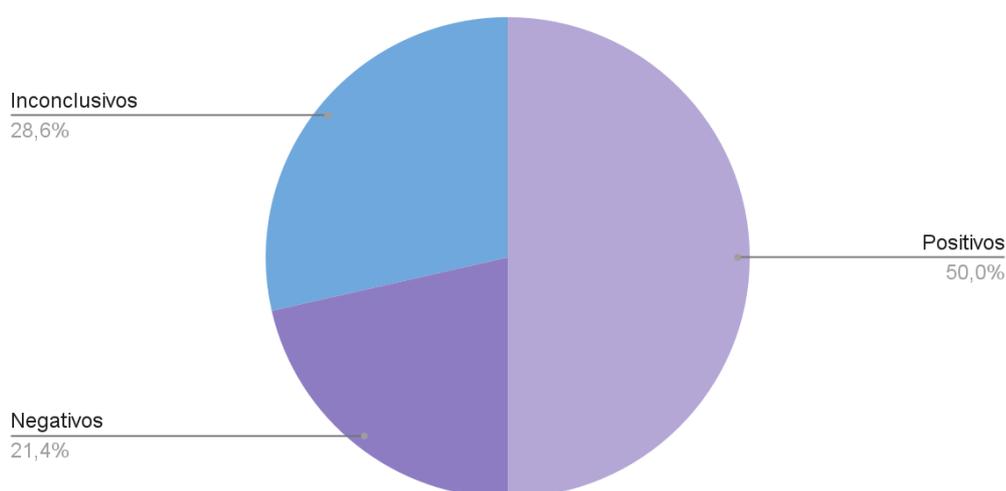
5.2 Protrombina mutante (G20210A)

Halimeh *et al.* (2001) viu melhora da clínica hemofílica em 3 pacientes hemofílicos A graves mutados para protrombina do total de 92 estudados, com início mais tardio da apresentação de sintomas, resultados que foram sustentados também na pesquisa de Nowak-Gottl *et al.* (2003) e López-Jiménez *et al.* (2009). No estudo de Tizzano *et al.*, foram estudados 125 pacientes com hemofilia A severa, dos quais 10 apresentaram mutação PT G20210A que apresentaram melhora significativa dos sintomas, com menor tendência hemorrágica, menor consumo de fator e menos casos de artropatia. Grunewald *et al.* (2002) achou 1 heterozigoto para mutação em 21 pacientes, o qual apresentou menor consumo de fator e menos casos de artropatia hemofílica em comparação com pacientes sem fatores pró-trombóticos. A melhora da clínica hemorrágica, com menor frequência anual de sangramentos e menor dano nas articulações foi encontrada por Kurnik *et al.* (2007). Hamdy *et al.* (2016) associou a PT mutante à menor frequência de sangramentos e menor incidência de hemartroses, especialmente sugerindo um efeito cumulativo das mutações FVL e PT na clínica dos pacientes (Figura 14).

Figura 14 - Prevalência dos resultados positivos, negativos e inconclusivos sobre a correlação entre presença da mutação da protrombina (G20210A) e fenótipo hemofílico.

Protrombina mutante (PT G20210A)

Total de 14 artigos



Fonte: Autoria própria.

Araújo *et al.* (2003), Sanna *et al.* (2008) e Mikovic *et al.* (2018) não correlacionaram qualquer efeito de abrandamento de sintomas à protrombina mutante, assim como o FVL. Ahmed *et al.* (2003), Beltran-Miranda *et al.* (2005),

Gurkan (2005) e Shetty *et al.* (2007) não encontraram nenhum paciente mutado para protrombina na população estudada.

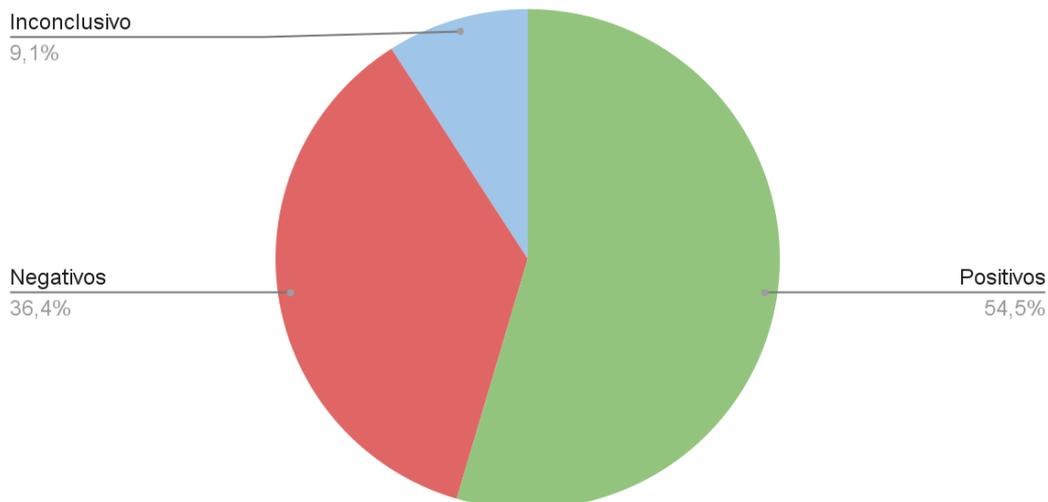
5.3 Polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR C677T)

Ghosh *et al.* (2001) observou que em 5 heterozigotos para MTHFR C677T em 11 pacientes hemofílicos A graves, dos quais todos tinham uma clínica moderada. Grunewald *et al.* associou o fenótipo hemofílico mais brando com o polimorfismo em homozigose do MTHFR C677T. Ahmed em seu estudo sugere um efeito protetor da mutação em relação aos eventos hemorrágicos, também considerando o polimorfismo em homozigose para haver a melhora clínica. Nowak-Gottl *et al.* (2003) e Mikovic *et al.* (2018) correlacionam o polimorfismo em homozigose ao início tardio dos sintomas (Figura 15).

Figura 15 - Prevalência dos resultados positivos, negativos e inconclusivos sobre a correlação entre presença da mutação do metilenotetrahidrofolato redutase (C677T) e fenótipo hemofílico.

MTHFR C667T

Total de 11 artigos



Fonte: Autoria própria.

Ademais, Hamdy *et al.* (2016) correlacionou o MTHFR C677T em homozigose com menor frequência de sangramentos quando comparados com pacientes com genótipo selvagem. Entretanto, a mutação MTHFR não foi associada apenas com

fenótipos leves e moderados, mas também com fenótipos graves e não apresentou benefício significativo em relação à hemartrose.

Araújo *et al.* (2003) e Sanna *et al.* (2008) não obtiveram resultados favoráveis à influência positiva do polimorfismo em relação à clínica, assim como observado para o FVL e PT G20210A. O único estudo que mostrou-se inconclusivo devido à ausência de pacientes portadores do polimorfismo C677T foi o de Shetty *et al.* (2007). López-Jiménez *et al.* (2009) em seu estudo não visualizou nenhum efeito adicional do MTHFR C677T na melhora clínica de pacientes que já apresentavam FVL e PT mutante. Gurkan (2005) em seu estudo não observou efeitos positivos do MTHFR na maioria dos seus pacientes, dentre os quais a maioria apresentou clínica grave, com exceção de um heterozigoto para MTHFR C677T. Entretanto, o mesmo sugere que a homozigose pode ser importante para a modificação do fenótipo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos estudos permitiu observar que atualmente é visto que há maior evidência de que o Fator V de Leiden e protrombina mutante (PTG20210A) estejam ligados a melhoria do fenótipo hemofílico, com menos episódios hemorrágicos, menos hemartroses, artropatia hemofílica e início tardio dos sintomas. Já o MTHFR C677T tem um papel menos elucidado sobre os episódios hemorrágicos e acometimento de articulações, mas foi relacionado frequentemente com o início tardio dos sintomas hemofílicos de acordo com os estudos analisados.

De um modo geral, é preciso salientar que outros fatores fazem com que os estudos sejam difíceis de ser comparados com maior acuracidade e coesão, como a inclusão de pacientes tanto hemofílicos A quanto hemofílicos B no mesmo estudo, diferentes variantes genéticas do fator VIII entre os hemofílicos A, diferentes graus de severidade da doença entre os pacientes de um mesmo estudo, presença de inibidores e baixo número de pacientes analisados (CASTALDO *et al.*, 2007).

Desse modo, é necessário que estudos de coorte com maior número de pacientes sejam realizados, selecionando hemofílicos com mesmo grau de severidade e incluindo na análise o desenvolvimento de inibidores contra o fator de coagulação deficiente nos pacientes estudados para que seja alcançada maior precisão nos resultados. Assim, estudos com maior acuracidade em investigar o Fator V de Leiden, protrombina mutante e polimorfismo da metilenotetrahidrofolato redutase poderiam servir como base para implementar melhorias futuras no manejo clínico dos pacientes, tendo em vista um tratamento mais individualizado de acordo com esses marcadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, Rafeeq; KANNAN, M.; CHOUDHRY, Ved Prakash; SAXENA, Renu. Does the MTHFR 677T allele alter the clinical phenotype in severe haemophilia A? **Thrombosis Research**, [S.L.], v. 109, n. 1, p. 71-72, jan. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0049-3848\(03\)00144-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0049-3848(03)00144-0).

ARAÚJO, F.; FRAGA, M.; HENRIQUES, I.; MONTEIRO, F.; MEIRELES, E.; PEREIRA, C.; LACERDA, P.; CUNHA-RIBEIRO, L. M.. The clinical phenotype modulation of haemophilia by prothrombotic gene mutations. **Haemophilia**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 235-236, mar. 2003. Wiley. http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2516.2003.00718_2.x.

ARBINI, Arnaldo; MANNUCCI, Pier Mannuccio; A BAUER, Kenneth. Low Prevalence of the Factor V Leiden Mutation Among “Severe” Hemophiliacs with a “Milder” Bleeding Diathesis. **Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 74, n. 05, p. 1255-1258, 1995. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0038-1649922>.

BELTRAN-MIRANDA, C. P.; KHAN, A.; JALOMA-CRUZ, A. R.; LAFFAN, M. A.. Thrombin generation and phenotypic correlation in haemophilia A. **Haemophilia**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 326-334, jul. 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2005.01107.x>.

BLANCHETTE, V.s.; KEY, N.s.; LJUNG, L.R.; MANCO-JOHNSON, M.J.; BERG, H.M. van Den; SRIVASTAVA, A.. Definitions in hemophilia: communication from the ssc of the isth. **Journal Of Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 1935-1939, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/jth.12672>.

BOLTON-MAGGS, Paula Hb; PASI, K John. Haemophilias A and B. **The Lancet**, [S.L.], v. 361, n. 9371, p. 1801-1809, maio 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)13405-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(03)13405-8).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Manual de diagnóstico e tratamento de inibidor em pacientes com hemofilia congênita**. Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. – 2. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Manual de hemofilia** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual de reabilitação na hemofilia** / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada.

Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados. – Brasília : Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. **Manual de diagnóstico laboratorial das Coagulopatias Hereditárias e Plaquetopatias** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Resolução RDC nº 23 de 24 de janeiro de 2002. **Aprovar o Regulamento Técnico sobre a indicação de uso de crioprecipitado**. Diário oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 24 jan. 2002.

CASTALDO, Giuseppe; D'ARGENIO, Valeria; NARDIELLO, Paola; ZARRILLI, Federica; SANNA, Veronica; ROCINO, Angiola; COPPOLA, Antonio; MINNO, Giovanni di; SALVATORE, Francesco. Haemophilia A: molecular insights. **Clinical Chemical Laboratory Medicine**, [S.L.], v. 45, n. 4, p. 450-461, 1 jan. 2007. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/cclm.2007.093>.

CEELIE, H.; RIEL, C.C. Spaargaren-Van; BERTINA, R.M.; VOS, H.L.. G20210A is a functional mutation in the prothrombin gene; effect on protein levels and 3'-end formation. **Journal Of Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 119-127, jan. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1538-7836.2003.00493.x>.

CHAVES, Jsi; LOPES, Alm; SCHUSTER, Ai; BASSANI, Bfb; LAGO, Naw; KIELING, Lm; SANTOS, Gf; RITTERBUSCH, Is; SCHELLE, Apr; CEZAR, Jpl. ARTROPATIA HEMOFÍLICA: uma revisão literária. **Hematology, Transfusion And Cell Therapy**, [S.L.], v. 43, p. 220-221, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.373>.

DAUTY, Marc; SIGAUD, Marianne; TROSSAËRT, Marc; FRESSINAUD, Edith; LETENNEUR, Joseph; DUBOIS, Charles. Iliopsoas hematoma in patients with hemophilia: a single-center study. **Joint Bone Spine**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 179-183, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbspin.2006.05.014>.

DUTREIL, S.; RICE, J.; LEISSINGER, C. A.. Quantifying adherence to treatment and its relationship to quality of life in a well-characterized haemophilia population. **Haemophilia**, [S.L.], v. 13, n. 5, p. 493-501, set. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2007.01526.x>.

DONCEL, Samuel Sarmiento; MOSQUERA, Gina Alejandra Díaz; CORTES, Javier Mauricio; RICO, Carol Agudelo; CADAVID, Francisco Javier Meza; PELÁEZ, Ronald Guillermo. Haemophilia A: a review of clinical manifestations, treatment, mutations, and the development of inhibitors. **Hematology Reports**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 130-150, 16 fev. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/hematolrep15010014>.

DUGA, Stefano; ASSELTA, Rosanna; TENCHINI, Maria Luisa. Coagulation factor V. **The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology**, [S.L.], v. 36, n. 8, p. 1393-1399, ago. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2003.08.002>.

DELOUGHERY, Thomas G.; HUNT, Beverley J.; BARNES, Geoffrey D.; CONNORS, Jean M.; AY, Cihan; BARCO, Stefano; CASTELLUCCI, Lana; CESARMAN-MAUS, Gabriela; PAULA, Erich Vinicius de; DUMANTEPE, Mert. A call to action: mthfr polymorphisms should not be a part of inherited thrombophilia testing. **Research And Practice In Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 12739-12741, abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1002/rth2.12739>.

EWING, N.; ESCURIOLA-ETTINGSHAUSEN, C.; KREUZ, W.. Prophylaxis with FEIBA in paediatric patients with haemophilia A and inhibitors. **Haemophilia**, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 358-364, 21 jan. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/hae.12602>.

FERREIRA, Cláudia Natália; SOUSA, Marinez de Oliveira; DUSSE, Luci Maria Sant'Ana; CARVALHO, Maria das Graças. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 416-421, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010000500016>.

FERREIRA, Cláudia Natália; SOUSA, Marinez de Oliveira; DUSSE, Luci Maria Sant'Ana; CARVALHO, Maria das Graças. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, [S.L.], v. 32, n. 5, p. 416-421, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010000500016>.

FRANCHINI, Massimo; MANNUCCI, Pier Mannuccio. Modifiers of clinical phenotype in severe congenital hemophilia. **Thrombosis Research**, [S.L.], v. 156, p. 60-64, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2017.05.038>.

FRIEDMAN KD; RODGERS GM. Inherited coagulation disorders. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B (eds.). **Wintrobe's Clinical Hematology**. 11.ed. v.2. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. p.1620-67.

GHOSH, K.; SHETTY, S.; MOHANTY, D.. Milder clinical presentation of haemophilia A with severe deficiency of factor VIII as measured by one-stage assay. **Haemophilia**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 9-12, jan. 2001. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2516.2001.00455.x>.

GOYETTE P *et al.* Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. **American Journal of Human Genetics**. 1995 Mai;56(5):1052-1059. PMID: 7726158; PMCID: PMC1801446.

GRÜNEWALD, M.; SIEGEMUND, A.; GRÜNEWALD, A.; KONEGEN, A.; KOKSCH, M.; GRIESSHAMMER, M.. Paradoxical hyperfibrinolysis is associated with a more intensely haemorrhagic phenotype in severe congenital haemophilia. **Haemophilia**, [S.L.], v. 8, n. 6, p. 768-775, 30 out. 2002. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2516.2002.00686.x>.

GÜRKAN, Emel; ASLAN, S. Clinical relevance of hereditary prothrombotic risk factors in patients with hemophilia. **Annals Of Medical Sciences**. [S.L.], v. 14, p. 26-30. set. 2005.

HALIMEH, S.; KURNIK, K.; SCHOBESS, R.; WERMES, C.; JUNKER, R.; KREUZ, W.; POLLMANN, H.; NOWAK-GÖTTL, U.; ETTINGSHAUSEN, C. Escuriola. Symptomatic Onset of Severe Hemophilia A in Childhood is Dependent on the Presence of Prothrombotic Risk Factors. **Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 85, n. 02, p. 218-200, 2001. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1615679>.

HAMDY, Mona Salah El-Din; NASR, Aml Soliman; MAKHLOUF, Manal Mohamed; EL-SAADANY, Zainab Ali; SAMIR, Magy; MORGAN, Dalia Saber. Impact of Prothrombotic Risk Factors in a Cohort of Egyptian Hemophilia A Patients. **Molecular Diagnosis & Therapy**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 151-159, 18 fev. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40291-015-0185-9>.

IBRAHIM, Umma A.; AHMED, Sagir G.. Determinants and modifiers of bleeding phenotypes in haemophilia-A: general and tropical perspectives. **Egyptian Journal Of Medical Human Genetics**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 171-178, jul. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmhg.2017.10.004>

KELLEY LA; NARVÁEZ AL. **Criando uma criança com hemofilia na América Latina**. Nicaragua: Baxter BioScience ; 2006.

KEMPTON, Christine L.; WHITE, Gilbert C.. How we treat a hemophilia A patient with a factor VIII inhibitor. **Blood**, [S.L.], v. 113, n. 1, p. 11-17, 1 jan. 2009. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2008-06-160432>.

KURNIK, K.; KREUZ, W.; HORNEFF, S.; DURING, C.; SCHOBESS, R.; BIDLINGMAIER, C.; ETTINGSHAUSEN, C. E.; KRUMPEL, A.; BOGDANOVA, N.; NOWAK-GÖTTL, U.. Effects of the factor V G1691A mutation and the factor II G20210A variant on the clinical expression of severe hemophilia A in children results of a multicenter study. **Haematologica**, [S.L.], v. 92, n. 7, p. 982-985, 1 jul. 2007. Ferrata Storti Foundation (Haematologica). <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.11161>.

LEE, D.H.; TEITEL, J.; POON, M.-C.; RITCHIE, B.; AKABUTU, J.; SINCLAIR, G. D.; PAI, M.; WU, J. W. Y.; REDDY, S.; CARTER, C.. Effect of the Factor V Leiden Mutation on the Clinical Expression of Severe Hemophilia A. **Thrombosis And Haemostasis**, [S.L.], v. 83, n. 03, p. 387-391, 2000. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1613824>.

LIEW, Siaw-Cheok; GUPTA, Esha das. Metylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. **European Journal Of Medical Genetics**, [S.L.], v. 58, n. 1, p. 1-10, jan. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2014.10.004>.

LÓPEZ-JIMÉNEZ, J. J.; BELTRÁN-MIRANDA, C. P.; MANTILLA-CAPACHO, J. M.; ESPARZA-FLORES, M. A.; GONZÁLEZ, L. C. López; JALOMA-CRUZ, A. R.. Clinical

variability of haemophilia A and B in Mexican families by factor V Leiden G1691A, prothrombin G20210A and MTHFR C677T/A1298C. **Haemophilia**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 1342-1345, nov. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2009.02069.x>.

MIESBACH, Wolfgang; KITTLER, Sabine; BAUHOFER, Artur; KÖNIGS, Christoph; BECKER, Thomas; NEMES, László; STAUS, Alexander; SCHÜTTRUMPF, Jörg. Long-term analysis of the benefit of prophylaxis for adult patients with severe or moderate haemophilia A. **Haemophilia**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 467-477, 15 abr. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/hae.13988>.

MIKOVIC, Danijela; PRUNER, Iva; ANTOVIC, Jovan P.; CHAIRETI, Roza. Presence of thrombophilia and levels of coagulation factors, coagulation inhibitors and TAFI do not affect global haemostasis or bleeding phenotype in patients with haemophilia A. **Thrombosis Research**, [S.L.], v. 173, p. 1-3, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2018.11.008>.

MOAKE, JL. **Hemofilia**. MSD Manuais Versão para Profissionais de Saúde. 2018. Disponível em: <<https://www.msdmanuals.com/pt/profissional/hematologia-e-oncologia/dist%C3%BArbios-de-coagula%C3%A7%C3%A3o/hemofilia>>. Acesso em: 21 mar. 2021.

MOREIRA, Analice Marques. **Influência do fator V de Leiden e da mutação G20210A no gene da protrombina no desenvolvimento de eventos trombóticos no município de Fortaleza**. 2008. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

MORFINI, M.. Articular status of haemophilia patients with inhibitors. **Haemophilia**, [S.L.], v. 14, p. 20-22, nov. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01885.x>.

NEVES, Lindalva Batista; MACEDO, Danielle Mazziero; LOPES, Antonio Carlos. Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 311-320, out. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442004000500006>.

NICHOLS, Wc; AMANO, K; CACHERIS, Pm; FIGUEIREDO, Ms; MICHAELIDES, K; SCHWAAB, R; HOYER, L; KAUFMAN, Rj; GINSBURG, D. Moderation of hemophilia A phenotype by the factor V R506Q mutation. **Blood**, [S.L.], v. 88, n. 4, p. 1183-1187, 15 ago. 1996. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood.v88.4.1183.bloodjournal8841183>.

NOWAK-GÖTTL, U.; KURNIK, K.; SCHOBESS, R.; HORNEFF, S.; KOSCH, A.; KREUZ, W.; POLLMANN, H.; NOWAK-GÖTTL, U. Haemophilia and thrombophilia. **Hämostaseologie**, [S.L.], v. 23, n. 01, p. 36-40, 2003. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-0037-1619560>.

PETKOVA, R.; CHACAROV, S.; HORVATH, A.; GANEV, V.; KREMENSKY, I. Coexistence of a common prothrombotic risk factor and hemophilia in the Bulgarian hemophilic population: Genotype/phenotype correlations. **Balkan Journal Of Medical Genetics**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 37-39, jan. 2001.

PIO, Simone Ferreira; OLIVEIRA, Guilherme Corrêa de; REZENDE, Suely Meireles. As bases moleculares da hemofilia A. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [S.L.], v. 55, n. 2, p. 213-219, 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-42302009000200029>.

POTGIETER, Joachim J.; DAMGAARD, Michael; HILLARP, Andreas. One-stage vs. chromogenic assays in haemophilia A. **European Journal Of Haematology**, [S.L.], v. 94, p. 38-44, 5 jan. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.12500>.

REMOR, E.. Predictors of treatment difficulties and satisfaction with haemophilia therapy in adult patients. **Haemophilia**, [S.L.], v. 17, p. 901-905, jun. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02578.x>.

REZENDE, Sueli Meireles. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas. **Rev Med Minas Gerais** 2010; 20(4): p. 534-553.

RODRIGUEZ-MERCHAN, E. C.. Aspects of current management: orthopaedic surgery in haemophilia. **Haemophilia**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 8-16, 27 abr. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02544.x>.

RODRIGUEZ-MERCHAN, E. C.. Aspects of current management: orthopaedic surgery in haemophilia. **Haemophilia**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 8-16, 27 abr. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2011.02544.x>.

SANNA, V.; ZARRILLI, F.; NARDIELLO, P.; D'ARGENIO, V.; ROCINO, A.; COPPOLA, A.; MINNO, G. di; CASTALDO, G.. Mutational spectrum of F8 gene and prothrombotic gene variants in haemophilia A patients from Southern Italy. **Haemophilia**, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 796-803, jul. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2516.2008.01705.x>.

SHETTY, Shrimati; VORA, Sonal; KULKARNI, Bipin; MOTA, Leenam; VIJAPURKAR, Manasi; QUADROS, Leera; GHOSH, Kanjaksha. Contribution of natural anticoagulant and fibrinolytic factors in modulating the clinical severity of haemophilia patients. **British Journal Of Haematology**, [S.L.], v. 138, n. 4, p. 541-544, ago. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06693.x>.

SRIVASTAVA, Alok; SANTAGOSTINO, Elena; DOUGALL, Alison; KITCHEN, Steve; SUTHERLAND, Megan; PIPE, Steven W.; CARCAO, Manuel; MAHLANGU, Johnny; RAGNI, Margaret V.; WINDYGA, Jerzy. WFH Guidelines for the Management of Hemophilia, 3rd edition. **Haemophilia**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 1-158, ago. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/hae.14046>.

TIZZANO, Eduardo F *et al.* The prothrombin 20210A allele influences clinical manifestations of hemophilia A in patients with intron 22 inversion and without inhibitors. **Haematologica**, S.L., v. 3, n. 87, p. 279-285, mar. 2002.

VAYNE, C.; GRUEL, Y.; POUPLARD, C.. Hemostasia: fisiología y principales pruebas de exploración. **Emc - Tratado de Medicina**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 1-10, mar. 2021. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1636-5410\(21\)44685-4](http://dx.doi.org/10.1016/s1636-5410(21)44685-4).

VEHAR, Gordon A.; KEYT, Bruce; EATON, Dan; RODRIGUEZ, Henry; O'BRIEN, Donogh P.; ROTBLAT, Frances; OPPERMANN, Herman; KECK, Rodney; WOOD, William I.; HARKINS, Richard N.. Structure of human factor VIII. **Nature**, [S.L.], v. 312, n. 5992, p. 337-342, nov. 1984. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/312337a0>.

World Federation of Hemophilia. **Annual Global Survey 2021**. S.L: World Federation Of Hemophilia, 2022.

APÊNDICE A — Tabela de dados dos artigos estudados

Tabela A1 – Descrição dos resultados principais dos estudos conduzidos para determinação da influência dos fatores pró-trombóticos na hemofilia. PHA: pacientes hemofílicos do tipo A; PHB: pacientes hemofílicos do tipo B; FVL: Fator V de Leiden (A1691G); PT: protrombina mutante (G20210A); MTHFR: mutação no gene da metilenotetrahidrofolato redutase (C677T).

N	Autor e ano	Local	Pacientes (n da amostra)	Fatores estudados	Prevalência	Resultados principais
1	Arbini <i>et al.</i> , 1995	Itália	17 PHA / 4 PHB	FVL	4,8%	Apenas 1 PHB heterozigoto para FVL sem correlação com o quadro clínico
2	Nichols <i>et al.</i> , 1996	EUA	6 PHA	FVL	33,3%	FVL presente em 2/4 PHA moderados e 0/2 em PHA graves, sugerindo modulação positiva na gravidade da doença
3	Lee <i>et al.</i> , 2000	Canadá	137 PHA	FVL	4,4%	6/137 PHA portadores do FVL com interferência positiva na clínica (menor utilização de fator e menos episódios hemorrágicos)
4	Petkova <i>et al.</i> , 2001	Bulgária	30 PHA / 1PHB	FVL	3,2%	1 paciente heterozigoto para FVL sem abrandamento do quadro clínico
5	Halimeh <i>et al.</i> , 2001	Alemanha	92 PHA	FVL PT	6,5% 3,2%	6/92 PHA mutados para FVL, 3/92 PHA portadores da mutação PT com início dos sintomas mais tardio em pacientes com as mutações
6	Ghosh <i>et al.</i> , 2001	Índia	11 PHA	FVL PT MTHFR	9,0% - 45,4%	1/11 heterozigotos para FVL, 5/11 heterozigotos para MTHFR, todos com clínica moderada. Salienta-se um PHA heterozigoto com melhora clínica em comparação com um familiar sem mutação do FVL, ambos com mesma mutação do FVIII
7	Tizzano <i>et al.</i> , 2002	Espanha	125 PHA	FVL PT	1,6% 8,0%	De 125 pacientes graves, 2/125 mutados para FVL e 10/125 mutados para PT. O paciente mutado para

						FVL tinha PT mutado concomitantemente, não sendo possível a correlação adequada do FVL. A mutação PT teve correlação com melhora clínica
8	Grunewald <i>et al.</i> , 2002	Alemanha	13 PHA / 8 PHB	FVL PT MTHFR	19,0% 4,8% 47,6%	4/21 heterozigotos para FVL, 1/21 heterozigotos para PT, 3/21 homozigotos para MTHFR e 10/21 heterozigotos para MTFHR. Os pacientes portadores dos fatores pró-trombóticos tiveram fenótipo hemorrágico menos severo em comparação com os pacientes sem os fatores pró-trombóticos
9	Ahmed <i>et al.</i> , 2003	Índia	48 PHA	FVL PT MTHFR	- - 29,2%	Nenhum dos pacientes apresentou mutação FVL ou PTG20210A. Dentre 14 pacientes moderados, 2/14 foram homozigotos para MTHFR e 2/14 heterozigotos para o polimorfismo. Homozigose do MTHFR não foi encontrado em pacientes graves
10	Nowak-Gottl <i>et al.</i> , 2003	Alemanha	103 PHA	FVL PT MTHFR	5,8% 3,9% 10,0%	6/103 mutados para FVL, 4/103 mutados para PT, 10/103 portadores do polimorfismo MTHFR com início mais tardio de desenvolvimento do primeiro sangramento sintomático nesses pacientes
11	Araújo <i>et al.</i> , 2003	Portugal	26 PHA / 11 PHB	FVL PT MTHFR	2,4% 2,4% 19,6%	Não houve melhora clínica nos pacientes portadores das mutações FVL (1/37 heterozigoto) PT (1/37 heterozigoto) e MTHFR (6/37 homozigotos)
12	Beltran-Miranda <i>et al.</i> , 2005	Inglaterra	23 PHA	FVL PT	- -	Não houveram pacientes portadores das mutações FVL e PT nos 23 pacientes com heterogeneidade de fenótipo
13	Gurkan, 2005	Turquia	28 PHA	FVL PT MTHFR	- - 39,3%	Não houve pacientes portadores de FVL e PT. 4/28 homozigotos MTHFR e 14/28 heterozigotos para MTHFR com desenvolvimento mais tardio do primeiro sangramento sintomático na homozigose
14	Kurnik <i>et al.</i> , 2007	Alemanha	107 PHA	FVL PT	7,4% 5,6%	8/107 mutados para FVL, 6/107 mutados para PT com abrandamento significativo do fenótipo hemofílico nesses pacientes

15	Shetty <i>et al.</i> , 2007	Índia	65 PHA / 7 PHB	FVL PT MTHFR	6,9% - -	4/35 pacientes com clínica branda apresentaram a mutação FVL, enquanto apenas 1/37 pacientes graves apresentou FVL, mostrando maior prevalência da mutação em pacientes com fenótipo menos severo
16	Sanna <i>et al.</i> , 2008	Itália	74 PHA	FVL PT MTHFR	Prevalência não relatada	Não houve melhora clínica significativa nos pacientes severos considerando os três fatores pró-trombóticos analisados
17	López-Jiménez <i>et al.</i> , 2009	México	257 PHA/PHB	FVL PT MTHFR	Prevalência não relatada	7 pacientes graves com mutação do FVL ou PT apresentou melhora clínica, não houve correlação positiva quando considerado o MTHFR
18	Hamdy <i>et al.</i> , 2016	Egito	100 PHA	FVL PT MTHFR	14,0% 3,0% 42,0%	13/100 heterozigotos e 1/100 homozigoto para FVL, 3/100 heterozigotos para PT, 36/100 heterozigotos para MTHFR e 6/100 homozigotos. FVL, PT e MTHFR parecem influenciar a frequência de sangramentos e FVL e PT a frequência de hemartroses. O estudo aponta para efeito positivo cumulativo dos fatores pró-trombóticos
19	Mikovic <i>et al.</i> , 2018	Sérvia	76 PHA	FVL PT MTHFR	3,9% 6,6% 19,7%	3/76 heterozigotos para FVL, 5/76 heterozigotos par PT, 15/76 homozigotos para MTHFR. Apenas o MTHFR foi correlacionado com primeiro sangramento sintomático mais tardio

Fonte: Autoria própria.