

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAIANE RODRIGUES CABRAL

**HEMOFILIA: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, MOLECULARES, GENÉTICOS E
POSSÍVEIS TRATAMENTOS**

CURITIBA

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DAIANE RODRIGUES CABRAL

**HEMOFILIA: ASPECTOS FISIOLÓGICOS, MOLECULARES, GENÉTICOS E
POSSÍVEIS TRATAMENTOS**

Monografia apresentada como requisito parcial à conclusão do Curso em Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio, na modalidade de Ensino a Distância, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Lethonen Rodrigues de Souza.

CURITIBA

2015

AGRADECIMENTOS

Agradeço a cima de tudo a Deus, pela força espiritual para a realização desse trabalho.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, carinho e incentivo.

Ao meu namorado, Eliandro, pelo amor, enorme paciência e apoio em todos os momentos.

Ao meu orientador Ricardo, pela orientação e confiança em meu trabalho.

Ao grupo de tutores da Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio da Universidade Federal do Paraná, em especial ao tutor Gustavo, pelos ensinamentos e paciência ao longo do curso.

RESUMO

O controle da perda excessiva de sangue, é regulado por um processo denominado de coagulação sanguínea, a qual consiste em uma série de modificações fisiológicas. Quaisquer desequilíbrios nesse processo podem ocasionar doenças hemorrágicas (coagulopatias), sendo a hemofilia a mais frequente na população mundial. A hemofilia é uma doença genética ligada ao cromossomo X, caracterizada pela deficiência do fator VIII (hemofilia A) ou fator IX (hemofilia B) da coagulação sanguínea. Clinicamente, as hemofilias caracterizam-se por episódios de sangramento principalmente nos músculos, articulações e tecidos moles que acontecem sem associação com traumas evidentes. O acompanhamento de um paciente hemofílico implica em uma série de providências, além da terapêutica de substituição feita com produtos derivados do sangue que contém o fator deficiente, VIII ou IX. Atualmente, com o avanço da terapia gênica, da terapia celular e dos aconselhamentos genéticos em pró da medicina terapêutica, a qualidade e a expectativa de vida de vida do hemofílico é similar a uma pessoa normal. Desta forma, este trabalho objetivou o estudo detalhado e profundo da hemofilia como o intuito de esclarecer os tratamentos utilizados e disponíveis até o momento, ou mesmo elucidar os mitos e verdades sobre os métodos de transmissão gênica dessa doença.

Palavras Chave: Hemofilia, fator de coagulação, tratamento disponível.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Etapas da hemostasia.....	11
FIGURA 2 – A proposta clássica da cascata da coagulação sanguínea: representação esquemática das vias extrínseca e intrínseca da coagulação	12
FIGURA 3 – Heredograma da transmissão da hemofilia de geração para geração	17
FIGURA 4 – Representação esquemática de F8 juntamente com a porção telomérica do cromossomo X	20
FIGURA 5 – Gene, RNA mensageiro, Proteína precursora e madura do FIX	22
FIGURA 6 – Representação da terapia gênica	24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP – Adenosina difosfato.

Anti-FVIII – Anticorpos contra o fator VIII da coagulação sanguínea.

Anti-FIX – Anticorpos contra o fator IX da coagulação sanguínea.

CTMs – Células-tronco mesenquimais.

FVIII – Fator VIII da coagulação sanguínea.

FVIIIa – Fator VIII ativado da coagulação sanguínea.

FVIII:Ag – Antígeno do fator VIII da coagulação sanguínea.

FVIII:C – Atividade coagulante do fator VIII da coagulação sanguínea.

FIX – Fator IX da coagulação sanguínea.

FIXa – Fator IX ativado da coagulação sanguínea.

FT – Fator tecidual.

FvW – Fator de von Willebrand da coagulação sanguínea.

FX – Fator X da coagulação sanguínea.

FXa – Fator X ativado da coagulação sanguínea.

HA – Hemofilia do tipo A.

HB – Hemofilia do tipo B.

Pb – Pares de bases.

rFVIII – Forma recombinante do fator VIII da coagulação sanguínea.

rFIX – Forma recombinante do fator IX da coagulação sanguínea.

RNA_m – Ácido ribonucleico mensageiro.

SNPs – *Single Nucleotide Polymorphism*.

TP – Tempo de protombina.

TTPA – Tempo de tromboplastina parcial ativada.

U/mL – Unidade por mililitro.

VNTRs – *Variable Number of Tandem Repeats*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. HEMOSTASIA	10
2.1 VIA CLÁSSICA DA CASCATA DE COAGULAÇÃO	11
3. HEMOFILIA	14
3.1 TRANSMISSÃO DA HEMOFILIA	15
3.1.1 ACONCELHAMENTO GENÉTICO	17
3.2 HEMOFILIA A	18
3.2.1 FATOR VIII	18
3.3 HEMOFILIA B	20
3.3.1 FATOR IX	21
3.4. TRATAMENTOS DISPONÍVEIS	22
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
5. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

O sangue é responsável por distintas funções no organismo, as quais mantêm constantes e normais às condições internas do corpo, de forma a permitir que os processos fisiológicos ocorram normalmente. Entretanto, caso ocorra um extravasamento de sangue ou do sangue não permanecer fluido, surgem algumas modificações fisiológicas que estancam o sangramento ou atuam na fluidez sanguínea (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008). Segundo Tuddenham & Cooper (1994a) citado por (AGOSTINI, 2011, p. 10; LEIRIA, 2008, p. 13) esse conjunto de alterações fisiológicas é conhecido como hemostasia.

O processo de hemostasia envolve um mecanismo complexo e finamente regulado, que está diretamente relacionado, entre outras funções, com o controle da perda excessiva de sangue, denominada de coagulação. A coagulação sanguínea consiste em uma série de reações bioquímicas sequenciais que envolvem a interação de proteínas, comumente referidas como fatores de coagulação, além de células e íons (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009). Deficiências nos fatores de coagulação ou mesmo qualquer desequilíbrio nesse processo podem ocasionar doenças hemorrágicas (coagulopatias), sendo a hemofilia a mais frequente na população mundial.

Segundo Pioi, Oliveira e Rezende (2009), o primeiro relato conhecido sobre hemofilia encontra-se no Livro Sagrado Judaico, denominado *Talmude*, datado do século II d.C. Desde então, a hemofilia vem sendo estudada, relatada e desvendada com o auxílio da genética ao longo da história.

A hemofilia é uma doença congênita hemorrágica, resultante de uma deficiência no processo de coagulação do sangue, que sem a intervenção médica apropriada e o acompanhamento fisioterapêutico preventivo, pode ocasionar a incapacidade funcional dos indivíduos acometidos (RODRIGUES, 2005; SAY *et. al.* 2003). As características dessa coagulopatia baseiam-se na ausência ou acentuada carência de um dos fatores coagulação sanguínea circundante no plasma; seja no fator VIII (hemofilia A) ou do fator IX (hemofilia B) da coagulação.

As hemofilias, independente de serem do tipo A ou B, podem ser classificadas quanto ao seu nível de deficiência dos respectivos fatores de coagulação em nível leve, moderado e grave (RODRIGUES, 2005; SAY *et. al.* 2003; AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009). Dependendo do nível severidade, as hemorragias podem ocorrer sob forma de hematúria, epistaxe, melena/hematêmese, ou se apresentarem como

hematomas, sangramentos retroperitoneais e intra-articulares (hemartroses), que constituem um dos aspectos mais característicos das formas graves da doença (ANTUNES, 2005, p.7).

Segundo a Orphanet (2014), a taxa de prevalência da hemofilia é de 7,7/100.000, ou seja, o número estimado de casos dessa doença hemorrágica é 7,7 indivíduos acometidos para 100.000 indivíduos normais. Assim, mesmo que o número de pessoas acometidas não ser exorbitante e de ser considerada uma doença rara, não são raros os casos de pessoas hemofílicas.

Devido a isso, o estudo detalhado e profundo da hemofilia faz-se necessário para um melhor entendimento de suas implicações na sociedade, seja no esclarecimento dos tratamentos utilizados e disponíveis até o momento ou mesmo elucidar os mitos e verdades sobre os métodos de transmissão gênica dessa doença.

O estudo foi realizado através de uma pesquisa bibliográfica, considerando a relevância do tema e a curiosidade de conhecer sob o olhar de autores consagrados, sobre as características gerais da hemofilia, os tratamentos disponíveis e a relação das baixas concentrações ou ausência do fator VIII ou IX (FVIII ou FIX) da coagulação no plasma em indivíduos hemorrágicos.

Para o desenvolvimento da pesquisa e melhor compreensão do tema, este trabalho foi elaborado a partir da análise e organização dos dados bibliográficos, instrumentos que permite uma maior compreensão e interpretação crítica das fontes obtidas. Assim, sendo a elaboração da pesquisa embasou-se em materiais já publicados sobre o tema; livros, artigos científicos, publicações periódicas e materiais disponíveis na Internet.

Para a organização do material foram realizadas a identificação da bibliografia pertinente, seguida pela leitura científica, juntamente, com o fichamento das mesmas; ou seja, estas primeiras etapas, segundo Oliveira (2008), é a forma organizada de registrar as informações obtidas na leitura de um texto, selecionando-as, organizando-as e registrando-as de maneira que atenda os objetivos do leitor. Após o fichamento, fez-se necessário a análise e interpretação das anotações, para posterior, dissertação da monografia.

Dentro desse contexto, o presente trabalho visa o estudo teórico da hemofilia, tanto do tipo A como do B, para melhor compreensão do mecanismo de ação dos fatores de coagulação, além de investigar os novos e eficazes tratamentos disponíveis.

2. HEMOSTASIA

O sangue é responsável por diversas funções importantes no organismo, as quais mantêm estável o ambiente interno de corpo, de forma que os processos fisiológicos possam ocorrer normalmente (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008). Afim, de manter essa estabilidade, o sangue deve permanecer fluido dentro do sistema circulatório (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008; CARLOS & FREITAS, 2007). No caso de ocorrer um extravasamento de sangue nos vasos ou do sangue não permanecer fluido, surgem certas modificações que estancam o sangramento ou atuam na fluidez sanguínea (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008). Segundo Tuddenham & Cooper (1994a) citado por (AGOSTINI, 2011, p. 10; LEIRIA, 2008, p. 13) esse conjunto de alterações fisiológicas é conhecido como hemostasia.

A hemostasia representa um complexo e eficiente mecanismo fisiológico de defesa contra a perda não controlada de sangue. Segundo Tuddenham & Cooper (1994a) citado por (AGOSTINI, 2011, p. 10; LEIRIA, 2008, p. 14) dele depende a formação do coágulo (coagulação) e sua degradação (fibrinólise).

Os componentes do sistema hemostático incluem as plaquetas, os vasos, as proteínas da coagulação do sangue, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise. O equilíbrio funcional dos diferentes “setores” da hemostasia é garantido por uma variedade de mecanismos, envolvendo interações entre proteínas, respostas celulares complexas, e regulação de fluxo sanguíneo (FRANCO, 2001, p.229).

Segundo Agostini (2011), Leiria (2008), Rosset (2013) e Berger (2014) o processo de hemostático envolve algumas etapas básicas (FIGURA 1): constrição e retração dos vasos sanguíneos na região lesada; aglutinação, adesão e agregação das plaquetas; e ativação da cascata de coagulação sanguínea, levando a formação da rede de fibrinas. Em situações que qualquer um desses componentes esteja alterado, a hemostasia é comprometida e o resultado é uma hemorragia.

O rompimento das células endoteliais, seja fisiologicamente ou em consequência de uma lesão, causa a exposição da matriz subendotelial, ocorrendo, inicialmente, a atração das plaquetas circulantes para o local. Após essa atração, as plaquetas interagem com proteínas adesivas, como por exemplo o Fator von Willebrand. E, por fim, a ativação das plaquetas leva a liberação de ADP, tromboxana e serotonina, os quais provocam o recrutamento de outras plaquetas para juntas realizarem um tampão celular – coagulação sanguínea (AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008; BERGER, 2014).

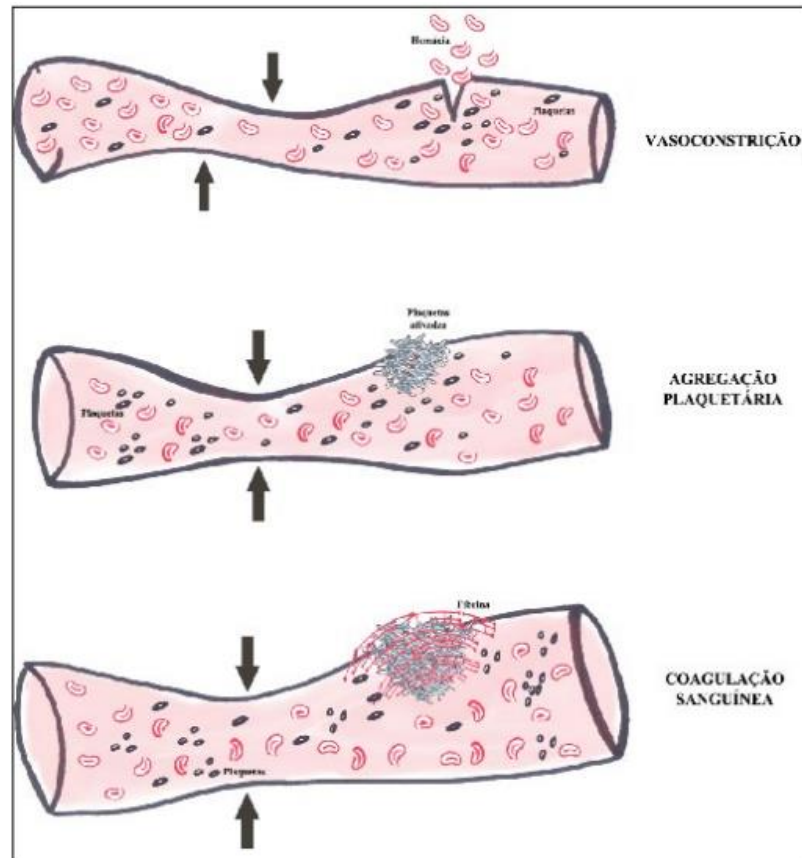


Figura 1 – Etapas da hemostasia

Fonte: Berger, 2014

A coagulação sanguínea é um processo extremamente importante para a manutenção da hemostasia de um sistema vivo quando ocorre alguma lesão de um tecido ou órgão. Esse processo é desencadeado por proteínas plasmáticas, fatores de coagulação, que são secretados principalmente pelos hepatócitos na forma de zimogênios na corrente sanguínea (CHAVES, 2010).

Segundo Agostini (2011, p.11 e 12) e Leiria (2008, p.14) o evento final desse processo de coagulação sanguínea (via clássica de coagulação) é a formação da fibrina, o qual é decorrente basicamente de duas reações: a conversão da protrombina em trombina e a transformação da fibrinogênio em fibrina sob a influência da trombina, sendo envolvidas várias etapas e a ativação de vários fatores de coagulação em cada uma das reações. Como esses fatores são interdependentes na formação de um coágulo, a deficiência de um ou mais fatores de pode resultar em uma resposta hemostática anormal.

2.1 Via Clássica da Cascata de Coagulação

Em 1964, Macfarlane, Davie & Ratnoff propuseram a hipótese da “cascata” para explicar a fisiologia da coagulação do sangue (FRANCO, 2001; AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008, ROSSET, 2013). O sistema funciona como uma cascata amplificadora, uma vez que o fator que dá início ao processo está em pequena quantidade, mas mesmo assim é capaz de ativar um número maior do próximo fator, e assim por diante.

A proposta compreende as vias intrínseca (ocorre através do próprio trauma do sangue, ou exposição deste ao colágeno da parede vascular) e extrínseca (iniciada por um trauma da parede do vaso ou dos tecidos extravasculares). Nas duas vias atuam aproximadamente 20 fatores plasmáticos, quase todos de natureza proteica, sendo a maioria enzimas que circulam em estado não ativado (zimogênios) no sangue, suscetíveis à ativação em cascata pelo fator anterior ativo (FIGURA 2) (FRANCO, 2001; AGOSTINI, 2011; LEIRIA, 2008, ROSSET, 2013).

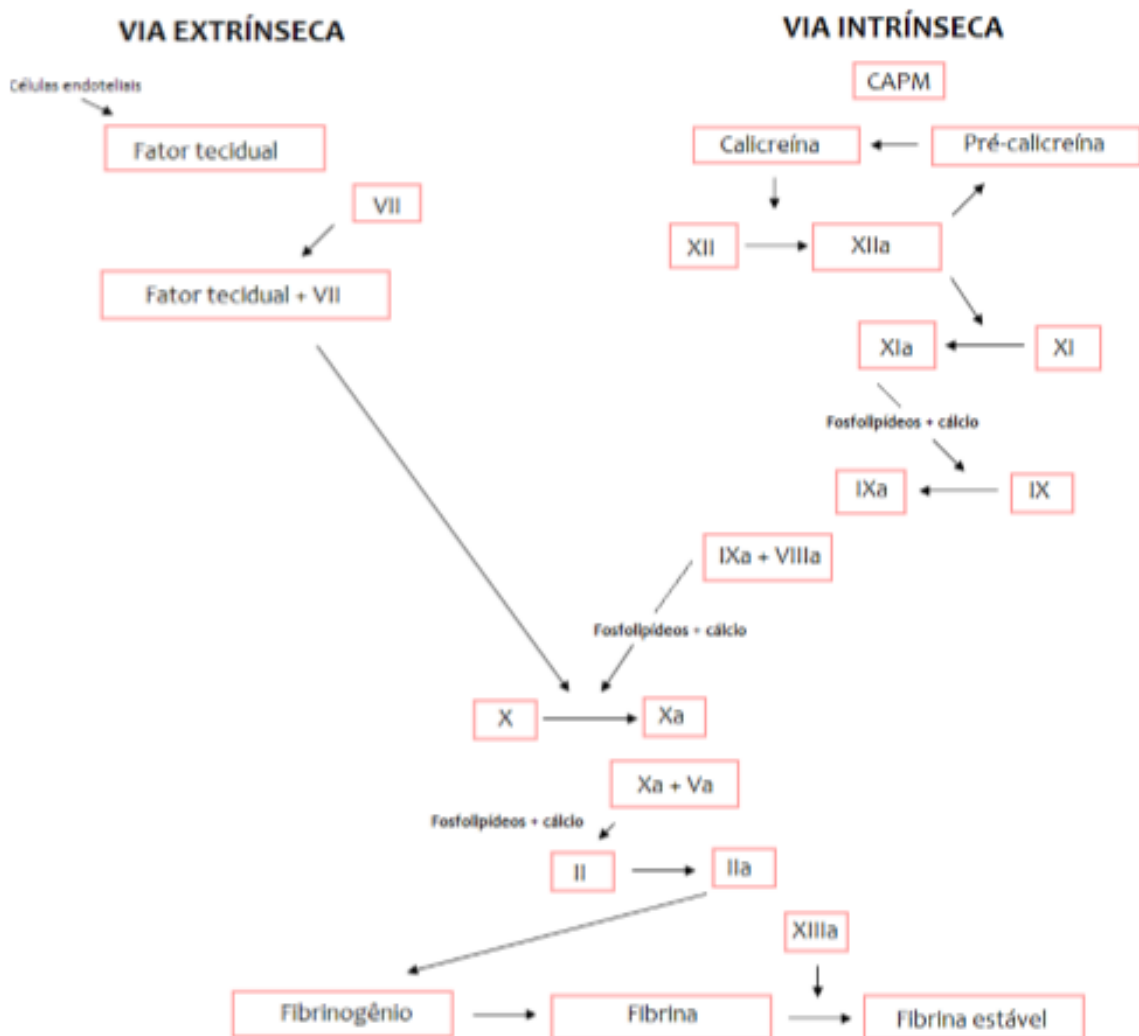


Figura 2 –A proposta clássica da cascata da coagulação sanguínea: representação esquemática das vias extrínseca e intrínseca da coagulação.

Fonte: Rosset, 2013.

O início da via extrínseca depende de um fator não circulante, o fator tecidual (FT), também conhecido como tromboplastina, e ocorre de forma explosiva. Segundo Rosset (2013, p. 13),

a lesão do vaso provoca a liberação de FT pelas células endoteliais, o qual, por sua vez, liga-se às formas zimogênicas do fator VII presentes no sangue. Essa ligação ativa o fator VII, promovendo a formação do complexo tenase extrínseco, que depende do cálcio e consiste na interação entre o FT e o fator VII ativado. Por fim, o complexo tenase extrínseco cataliza a ativação do fator X (FX).

A via intrínseca depende de um fator circulante (fator XII) e ocorre de forma mais lenta. Segundo Rosset (2013, p. 13 e 14),

o cininogêneo de alto peso molecular começa a ativar o fator XII. Esse fator XII ativado, por sua vez, ativa o fator XI, e o fator XI ativado participa da formação do complexo tenase intrínseco, dependente de cálcio e fosfolípídeos de membrana. O complexo tenase intrínseco ativa o fator IX (FIX), o qual por sua vez, na presença do fator VIII ativado (FVIIIa), ativa o FX.

A partir da ativação do FX, o mecanismo observado na via extrínseca e intrínseca é o mesmo, assim, passando a ser chamado de via comum. O fator X ativado (FXa), ativa o fator V, possibilitando a formação do complexo protombinase, formado pelos fatores Xa, Va e protrombina na membrana fosfolídica das plaquetas. O complexo protombinase, que também depende de cálcio, leva à conversão da protrombina (fator II) em trombina, que promove a transformação do fibrogêneo em de fibrina e a ativação do fator XIII. O fator XIIIa estabiliza o coágulo. Por fim, o processo é finalizado com a formação de um aglomerado de plaquetas e células, o que consolida o coágulo que sela a leão e interrompe o extravasamento sanguíneo (LEIRIA, 2008, p.16; ROSSET, 2013, p. 14; SOUZA *et. al.* 2011, p. 8).

Atualmente, a divisão do sistema de coagulação do sangue em intrínseco e extrínseco é considerada inadequada., tendo em vista que essa divisão não ocorre *in vivo*. Nesse contexto, pode-se perceber a importância dos diversos fatores de coagulação e mensurar os problemas causados pela ausência de apenas um deles.

3. HEMOFILIA

A hemofilia é uma doença hemorrágica hereditária, caracterizada pela ausência ou deficiência dos fatores de coagulação: Fator VIII (hemofilia A) ou Fator IX (hemofilia B). É a coagulopatia hereditária mais comum em humanos, sendo que a hemofilia A é a mais frequente, totalizando 85% dos casos (SCHILLER, 2008; RODRIGUES, 2005; SAY *et. al.* 2003; CALEGARO, 2007).

Segundo Calegato (2007), Agostini (2011) e Molina (2013), as alterações genéticas que determinam as hemofilias A e B ocorrem nos genes que codificam seus respectivos fatores de coagulação, essas mutações podem estar associadas à deleções, inversões ou mutações. E, dependendo da mutação, a gravidade e a resposta ao tratamento são bastante variáveis.

As hemofilias caracterizam-se clinicamente pelo aparecimento de sangramentos recorrentes após traumatismo de intensidade mínima. Contudo, muitas manifestações hemorrágicas acontecem sem associação a traumas evidentes ou após algum tipo de acidente. (SCHILLER, 2008). Por sua determinação genética, os episódios de hemorragias iniciam-se precocemente na vida (SAY *et. al.* 2003), assim sendo, tornar-se necessário uma profilaxia ainda na infância.

A frequência e a gravidade dos episódios hemorrágicos estão geralmente relacionadas com as concentrações plasmáticas do fator deficiente, de modo que a gravidade da doença é diretamente proporcional ao grau de deficiência do fator (SCHILLER, 2008; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009). Desta forma, a quantificação do fator deficiente torna-se indispensável para o correto acompanhamento e tratamento da doença.

De acordo com o nível plasmático de deficiência dos fatores de coagulação (fator XIII e fator IX) a hemofilia pode ser considerada (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009; CALEGARO, 2007; SCHILLER, 2008; SOUZA *et al.* 2011; ASTRA, TRIBIOLI & AARESTRUP, 2014; FLORES *et. al.* 2004):

- Grave: inferior a 1% ou 1U/ml;
- Moderado: fator entre 1 e 5% ou 1 a 5 U/ml;
- Leve: fator entre 5 e 25% ou 5 a 25 U/ml.

As manifestações hemorrágicas podem aparecer já no primeiro ano de vida, e podem ser espontâneas ou precedidas por traumas. Sua gravidade depende dos níveis plasmáticos dos

fatores de coagulação (FVIII ou FIX). Segundo Astra, Tribioli e Aarestrup (2014), a distinção entre hemofilia grave e não grave é essencial, uma vez que, a condição leve da doença só é detectada em adultos somente após uma hemorragia secundária; enquanto em portadores da grave, as primeiras hemorragias acontecem antes do segundo ano de vida do indivíduo.

A forma leve da hemofilia, ocorre em 40% dos pacientes e é caracterizada por hemorragias somente após traumas significativos ou cirurgias; já a forma moderada está presente em cerca de 10% dos pacientes, os quais apresentam quadros hemorrágicos após pequenos traumas; enquanto, o restante dos pacientes, aproximadamente 50%, são diagnosticados com a forma grave da doença e apresentam manifestações hemorrágicas de repetição e hemartroses graves, as quais, quando não tratadas adequadamente, evoluem para artropatia hemofílica crônica (sinovite crônica, artropatia deformante) (SCHILLER, 2008; CHAVES, 2010).

No entanto, outras complicações podem acometer os pacientes hemofílicos, como: contraturas, formação de pseudotumor (tecido mole e ósseo), hematomas subcutâneo ou intramuscular, hematúria, sangramento gastro-intestinal, cistos hemorrágicos, complicações neurológicas e outros tipos de sangramentos como epistaxe e sangramentos de mucosas. (SCHILLER, 2008; CALEGARO, 2007). No entanto, a expectativa de vida de vida do hemofílico, com as medicas terapêuticas atuais, é similar a uma pessoa normal.

Segundo a Orphanet (2014) o número estimado de casos de pacientes hemofílicos é de 7,7 indivíduos acometidos para 100.000 indivíduos normais. Enquanto, no Brasil, não há uma incidência verdadeira conhecida, porém, a Hemobrás (2014) estima que existem cerca de 11 mil pessoas com hemofilia, as quais são atendidas exclusivamente pelo Sistema Único de Saúde - SUS.

O acompanhamento de um paciente hemofílico implica em uma série de providências, além da simples terapêutica de substituição feita com produtos derivados do sangue, que devem conter o fator deficiente VIII ou IX, conforme o caso (SCHILLER, 2008, p.12); requer o tratamento das hemorragias agudas, cuidado pré-operatórios e profilaxia das hemorragias.

3.1 Transmissão da hemofilia

A hemofilia é uma doença de transmissão genética recessiva ligada ao cromossomo X, portanto está ligada aos cromossomos sexuais. Consiste em uma anomalia resultante de uma alteração no gene dos fatores VIII (hemofilia A) ou no gene dos fatores IX (hemofilia B),

localizadas na porção 2.8 do braço do cromossomo X (ANTUNES *et al.* 2005), que comandam a síntese proteica necessária à sequência reações da coagulação sanguínea.

Os homens são clinicamente mais afetados, pois possuem um único alelo dos fatores de coagulação (XY) enquanto as mulheres possuem dois alelos (XX). Homens com um alelo com mutação (X^HY) terão a doença, enquanto mulheres com um único alelo com mutação (X^HX) serão portadoras e, portanto, com 50% de probabilidade de transmitir o alelo anormal à sua prole, em cada gestação. Já as mulheres com mutação em ambos os alelos (X^HX^H), manifestaram a doença, embora seja muito rara (Figura 3A) (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009).

A união de uma mulher portadora com um indivíduo saudável, terá a probabilidade de 50% das suas filhas serem portadoras e 50% de seus filhos serem hemofílicos (Figura 3B). O filho que herdou o cromossomo X como o alelo recessivo, isto é, com o alelo anormal, é hemofílico uma vez que os genes localizados no cromossomo X manifestam-se sempre, quer sejam dominantes quer sejam recessivos, pois são únicos (RODRIGUES, 2005, p. 6).

Segundo Rodrigues (2005) as mulheres portadoras terão entre 25% a 75% da atividade dos fatores de coagulação (fatores VIII e IX) no seu plasma, o que ocasionalmente não ocasiona nenhum sintoma específico da hemofilia. No entanto, apesar de muito rara, a hemofilia pode ocorrer em mulheres (Figura 3C), em decorrência da união de um homem hemofílico e com uma mulher portadora. Ou seja, para mulher ser hemofílica é necessário que ela herde um cromossomo X do seu pai hemofílico e outro cromossomo X da sua mãe portadora

A descendência masculina de um homem hemofílico com uma mulher saudável (Figura 3D), virá 100% normal, uma vez que o cromossomo Y que herdamos do pai não possuem o gene anormal da doença. Enquanto a descendência feminina será 100% portadora da hemofilia, já que recebe necessariamente o cromossomo X do pai com o alelo recessivo.

Cerca de 30% dos pacientes diagnosticado com hemofilia não possuem histórico familiar (Figura 3E). Estes casos são explicados pela ocorrência de mutações espontâneas que podem acontecer em duas situações: (I) durante a gametogênese de um dos progenitores, devido a forma latente do gene que pode ter sido passada geração para geração sem se manifestar; ou (II) a mutação pode ocorrer durante os primeiros estágios da embriogênese do paciente afetado, devido a ação de agentes externos, como por exemplo, radiação (RODRIGUES, 2005; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009).

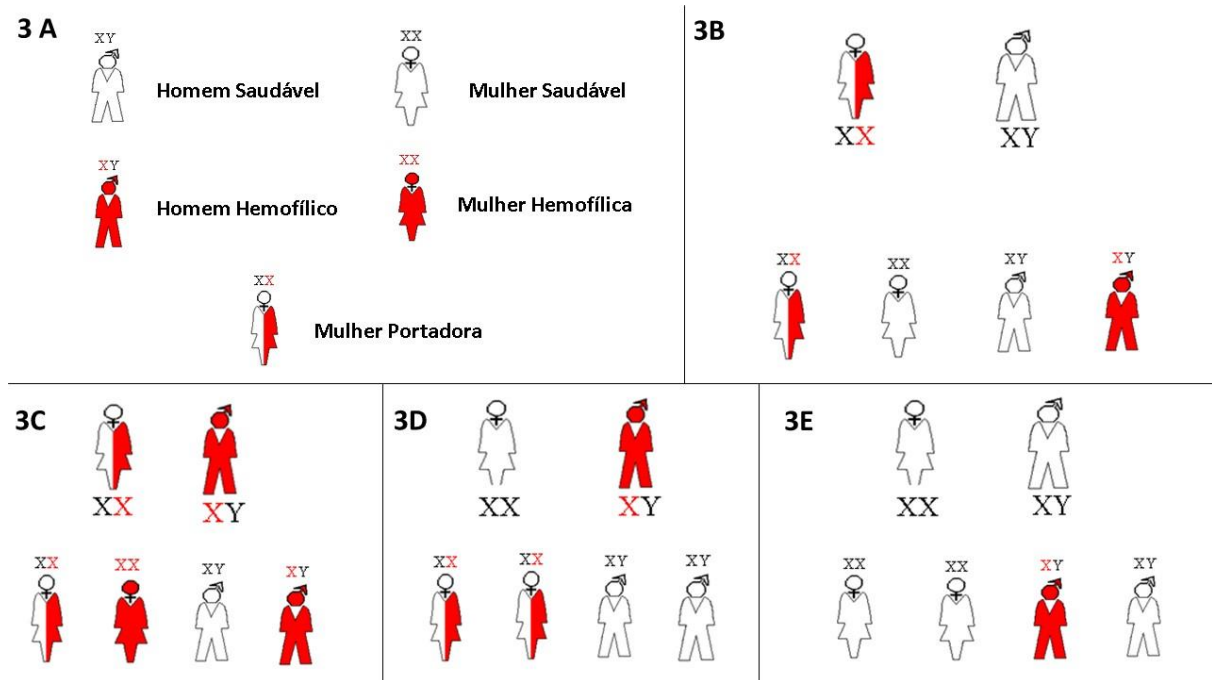


Figura3 – Heredograma da transmissão da hemofilia de geração para geração.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor deste trabalho

3.1.1 Aconselhamento genético

O aconselhamento genético é um processo que serve para o portador de qualquer doença hereditária e seus familiares conhecerem as consequências, a probabilidade da doença de ser transmitida para os descendentes e os métodos de prevenção, assim como alternativas de tratamento.

Com o decorrer dos anos, o aconselhamento genético vem evoluído e a investigação molecular tem permitido testes de diagnóstico pré-natal, como a colheita das vilosidades coriônicas, realizadas entre a 10^a e 16^a semanas de gestação; ou mesmo, por meio da pré-implantação que permite aos casais testar e selecionar embriões saudáveis e efetuar a implantação do embrião no útero da mulher com total segurança sobre a não inexistência do gene mutado da hemofilia (RODRIGUES, 2005).

Vários membros da família, incluindo o indivíduo afetado, necessitam ser testados para delinear a hereditariedade do gene dos fatores VIII e IX (RODRIGUES, 2005), para total segurança do aconselhamento genético e possibilidade de melhor qualidade de vida dos indivíduos afetados.

3.2 HEMOFILIA A

A hemofilia A (HA), também conhecida como hemofilia clássica, é a doença hemorrágica mais frequente da via intrínseca da cascata de coagulação sanguínea (LEIRIA, 2008; AGOSTINI, 2011; MOLINA, 2013); e refere-se à deficiência funcional de uma glicoproteína não enzimática, denominada fator VIII da coagulação (FVIII). Essa deficiência, dificulta a geração de trombina, resultando na ausência de consolidação do coágulo de fibrina, o que causa falha no reparo da lesão endotelial (CHAVES, 2010; AGOSTINI, 2011).

Em diferentes populações étnicas e geograficamente distintas já estudadas, a prevalência estimada da hemofilia A é de, aproximadamente, 1:10.000 nascimentos (LEIRIA, 2008; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009; CHAVES, 2010; AGOSTINI, 2011; MOLINA, 2013; ROSSET, 2013).

O diagnóstico dessa doença é realizado através da observação dos sintomas e da execução dos testes de triagem da cascata de coagulação – tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) e o tempo de protrombina (TP) –, assim como a dosagem do fator VIII (LEIRIA, 2008; AGOSTINI, 2011; ROSSET, 2013). Segundo Rosset (2013, p. 32), o fator VIII pode ser dosado no plasma de forma quantitativa por métodos que detectam o antígeno do fator VIII (FVIII:Ag), ou de forma qualitativa, que mede a atividade coagulante do FVIII (FVIII:C). Utilizando-se dos conceitos de via intrínseca e extrínseca, ainda empregados para análise laboratorial, os hemofílicos A apresentam o TTPA aumentado, pois ele mede a atividade *in vivo* da via intrínseca de coagulação, enquanto o TP, que mede a via extrínseca, encontra-se normal (AGOSTINI, 2011, p.21; ROSSET, 2013, p. 32 e 33).

3.2.1 Fator VIII (FVIII)

O fator VIII (FVIII) é uma glicoproteína sintetizada principalmente em hepatócitos. Porém o RNA mensageiro (RNAm) do FVIII foi encontrado em outros tecidos, como baço, rins, linfonodos, placenta, pâncreas, células endoteliais e músculos (ROSSET, 2013). Portanto, a expressão do FVIII não é restrita ao fígado, como nos outros fatores de coagulação.

O FVIII é essencial para a coagulação sanguínea, servindo de cofator para o FIXa na conversão do FX em FXa (ROSSET, 2013, p.19). A estabilidade do FVIII depende da interação não-covalente com o fator von Willebrand (FvW), que também atua na adesão e agregação plaquetárias. Rosset (2013, p.19) afirma que o FvW protege o FVIII da degradação

e da endocitose, além de concentrá-lo no seu sítio de ação; ou seja, sem a ligação ao FvW, o fator VIII é rapidamente degradado na circulação, o que conseqüentemente, causa a alteração dos níveis normais de FVIII plasmáticos.

Ainda segundo Rosset (2013, p.19), além do FvW, outros fatores podem interferir nos níveis de FVIII em pessoas saudáveis, como a idade e o sexo, o uso de contraceptivos orais, o fumo, o tipo sanguíneo ABO, os níveis de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade e triglicerídeos.

Contudo, a redução da atividade do FVIII pode ocorrer por alterações no gene que o codifica (F8). Uma característica importante desse gene é o seu baixo índice de polimorfismo, sendo observados apenas dois tipos: polimorfismo de único nucleotídeo (SNPs) e sequência de números variável repetidas em “tandem” (VNTRs) (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009, p.214-215). Essas variações têm relevância clínica no contexto de doenças hereditárias, uma vez que podem ser usados para rastrear um gene mutado em uma família afetada.

Segundo Pio, Oliveira e Rezende (2009, p.214), Chaves (2010, p.4), Souza *et. al.* (2011, p.8) e Rosset (2013, p.19) o gene F8 está localizado na extremidade distal do braço longo do cromossomo X (Xq28) e possui 186 kb de DNA genômico com 26 éxons, que variam em tamanho 69 a 3106 pares de bases; e 25 íntrons, que representam 95% do gene (177kb).

Duas inversões são as mutações mais frequentemente encontradas no gene F8, inversão do íntron 22 e inversão do íntron 1, as quais ocorrem em 50% dos hemofílicos do tipo grave, sendo muito raros registros dessas inversões em hemofílicos com forma moderada e leve (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009; AGOSTINI, 2011; ROSSET, 2013). Segundo Agostini (2011, p. 22 e 23),

na inversão do íntron 22, o gene é invertido como resultado de uma recombinação homóloga intra-cromossômica entre uma cópia de uma sequência de 9.5kb conhecida como *int22h-1* e uma de suas regiões homologas teloméricas, *int22h-2* e *int22h-3*; dependendo da cópia extragênica envolvida no evento de recombinação, dois tipos de inversão são reconhecidos: distal (*int22h-3*) e proximal (*int22h-2*). Já, a inversão do íntron 1 é baseada em um mecanismo similar, no qual uma cópia de *int1h-1* pode recombinar com região homologa extragênica *int1h-2*, levando a ruptura do gene pela inversão e a separação do éxon 1 do resto do gene (Figura 4).

Apesar do grande volume de informações sobre as bases moleculares da hemofilia A existe um percentual de cerca de 2% dos pacientes cujo diagnóstico molecular não é

estabelecido, mesmo usando abordagens mais avançadas para a análise do gene (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009, p.216). Isto pode ser decorrente de mutações que estão presentes em regiões não codificadoras ou destes pacientes não possuem mutação associada ao gene F8.

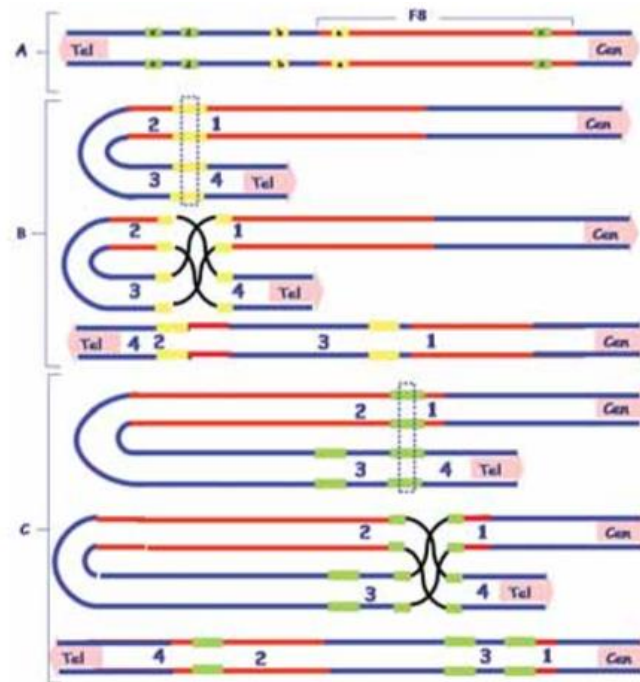


Figura 4 –Representação esquemática de F8 juntamente com a porção telomérica do cromossomo X. No esquema, as regiões em cor amarelo e verde são regiões de alta similaridade presentes dentro e fora de F8. “a” e “b” representam respectivamente as cópias *int1h-1* e *int1h-2*, enquanto “c”, “d” e “e” representam respectivamente as cópias de *int22h-1*, *int22h-2*, *int22h-3*.

Fonte: Pioi, Oliveira e Rezende, 2009, p.216

3.3 HEMOFILIA B

A hemofilia B (HB), também conhecida como doença de Christmas, é uma doença hemorrágica da via intrínseca da cascata de coagulação (FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011), e refere-se à deficiência funcional de uma glicoproteína não enzimática, denominada de fator IX (FIX) da coagulação sanguínea (CALEGARO, 2007; FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011). Essa deficiência, assim como na HA, dificulta a geração de trombina, resultando na ausência de consolidação do coágulo de fibrina, causando uma falha no reparo da lesão endotelial (CHAVES, 2010; AGOSTINI, 2011; CALEGARO, 2007; FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011).

Em diferentes populações étnicas e geograficamente distintas já estudadas, a hemofilia B afeta um em cada 30 mil homens no mundo considerando todos os graus de severidade; ou seja, sua incidência é, aproximadamente, dez vezes menor quando comparada com a hemofilia A (CALEGARO, 2007; FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011; SCHILLER, 2008).

Segundo Calegato (2007), a hemofilia B apresenta sua hereditariedade, seu quadro clínico e sua classificação idênticos à hemofilia A. Desta forma, o diagnóstico dessa doença também é realizado através da observação dos sintomas e da execução dos testes de triagem da cascata de coagulação – tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) e o tempo de protrombina (TP) –, assim como a dosagem do fator IX.

3.3.1.Fator IX (FIX)

O fator IX (FIX) é uma glicoproteína plasmática sintetizada pelo fígado, dependente de vitamina K e da sua forma precursora, o zimogênio. (CALEGARO, 2007; FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011).

O gene do fator IX encontra-se localizado em Xq27.1 e contém 33.5 kilobases, incluindo sete íntrons e oito éxons (RODRIGUES, 2005; FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011). Após a tradução dessa proteína, ocorre duas modificações, as quais têm a finalidade de proporcionar a proteína FIX dobramentos conformacionais para que ela atinja sua estrutura tridimensional adequada (FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011). Nesta etapa a proteína, torna-se apta para ser secretada e desempenhar sua função biológica quando necessária.

Na circulação sanguínea a proteína FIX inativa é ativada proteoliticamente via o complexo Fator VIIa/fator tecidual, resultando na forma ativada, a qual é denominada FIXa. Segundo Fernandes, Almeida e Oliveira (2011),

a ativação do FIX ocorre no plasma após a clivagem em duas regiões (Arg145-Arg146 e Arg180-Val181) resultando na formação das cadeias leve (N-terminal de 145 aminoácidos e peso molecular de 16 kDa) e pesada (C-terminal de 234 aminoácidos e peso molecular 29 kDa) as quais são unidas por uma única ponte dissulfídica entre os resíduos de cisteína 132 e 279 (Figura 5).

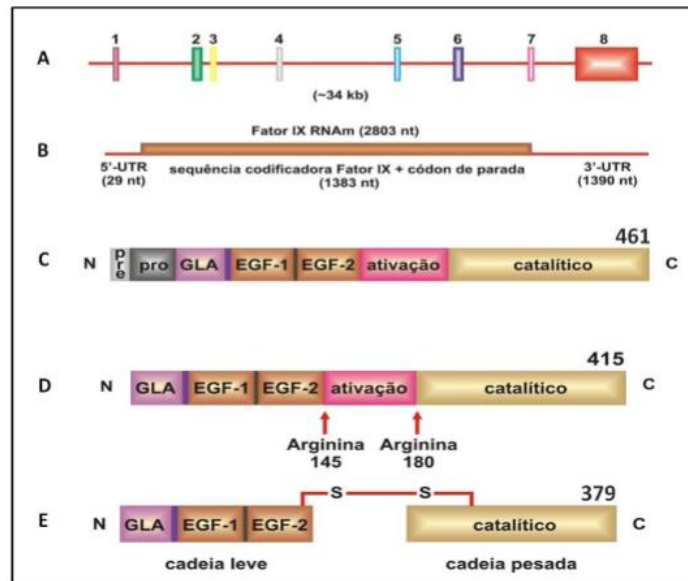


Figura 5 – Gene, RNA mensageiro, Proteína precursora e madura do FIX.

Fonte: Fernandes, Almeida e Oliveira, 2011, p. 242.

3.4 TRATAMENTOS DISPONÍVEIS

Durante muitos anos não existiu tratamento adequado para a hemofilia, somente em 1840 um médico inglês ao querer estudar mais profundamente a origem dessa coagulopatia, realizou pela primeira vez uma transfusão de sangue de um doador saudável em um hemofílico, o que acarretou o estancamento imediato do sangramento (RODRIGUES, 2005; MOLINA, 2013). A partir de 1857, essas transfusões sanguíneas foram substituídas por concentrados de FVIII obtidos por meio da crioprecipitação de plasma de doadores humanos (MOLINA, 2013). A introdução dos concentrados de FVIII alterou drasticamente o prognóstico dos portadores de hemofilia A, principalmente da forma grave, aumentando em muito a expectativa de vida de indivíduo hemofílico.

O sucesso alcançado com a terapia de reposição do concentrado FVIII nos pacientes hemofílicos, durante as décadas de 1960 e 1970 sofreu um importante retrocesso no início da década de 1980 devido a contaminação viral dos concentrados. Uma vez que na época não existiam critérios rigorosos para a seleção dos doadores e os concentrados obtidos não eram submetidos a nenhum tratamento para inativação viral (RODRIGUES, 2005; MOLINA, 2013).

Com esse cenário de contaminação viral, em 1990 apareceram os primeiros concentrados comerciais de alta pureza e a obtenção da forma recombinante do fator VIII humano (rFVIII) (RODRIGUES, 2005; MOLINA, 2013). Segundo Molina (2013, p. 22), o

rFVIII é obtido por meio da engenharia genética de células de mamíferos em cultura de forma que estas células passem a produzir o rFVIII e secretá-lo para o meio extracelular, de onde ele passa ser purificado. Por exemplo, Garcia & Chamas (1996) relata que já são geradas ovelhas que produzem leite contendo fatores de coagulação recombinante, que podem ser extraídos e utilizados como medicamento para hemofilia.

No entanto, geralmente, a produção industrial mundial do rFVIII é insatisfatória devido à complexidade do processo de obtenção do rFVIII, uma vez que essa produção exige a utilização de células eucarióticas vivas e o curto período de meia-vida do rFVIII (MOLINA, 2013).

A terapia de reposição dos fatores de coagulação (recombinantes ou concentrados) para o tratamento dos pacientes hemofílicos pode ser realizada sobre demanda, ou seja, após a ocorrência do episódio hemorrágico ou de maneira profilática, a qual pode ser subdividida em profilaxia primária ou secundária (RODRIGUES, 2005; MOLINA, 2013). Segundo Rodrigues (2005), a profilaxia primária visa a prevenção do aparecimento de hemorragias incontroláveis e a diminuição das hemorragias nas articulações nos primeiros anos de vida, enquanto a profilaxia secundária visa a prevenção de danos futuros nas articulações em jovens e adultos.

Desde os primórdios da terapia gênica, a hemofilia tem sido considerada como uma importante doença alvo (VANDENDRIESSCHEL & CHUAH, 2011). Uma vez que, o tratamento por terapia gênica da hemofilia é considerada como um método revolucionário com esperança de sucesso, já que, atualmente, se conhece muito sobre a transmissão da doença, a localização e estrutura do gene, além da estrutura e função dos fatores de coagulação (RODRIGUES, 2005; VANDENDRIESSCHEL & CHUAH, 2011). O objetivo da terapia gênica, segundo Rodrigues (2015, p. 15) é que a concentração do fator em falta no sangue aumente de 1% a 5% e fixa-la nesse valor, para assim converter a hemofilia grave em uma forma mais branda.

A terapia gênica nos doentes hemofílicos permite que as células com os genes dos fatores VIII e IX sejam induzidas a produzir o fator de que carecem. Para a realização desse processo, são necessários o vector de transporte do gene, o gene a ser transferido e a célula alvo específica (Figura 6) (RODRIGUES, 2005). No entanto, a terapia gênica abrange alguns obstáculos como a rejeição do gene ou a destruição do seu produto.

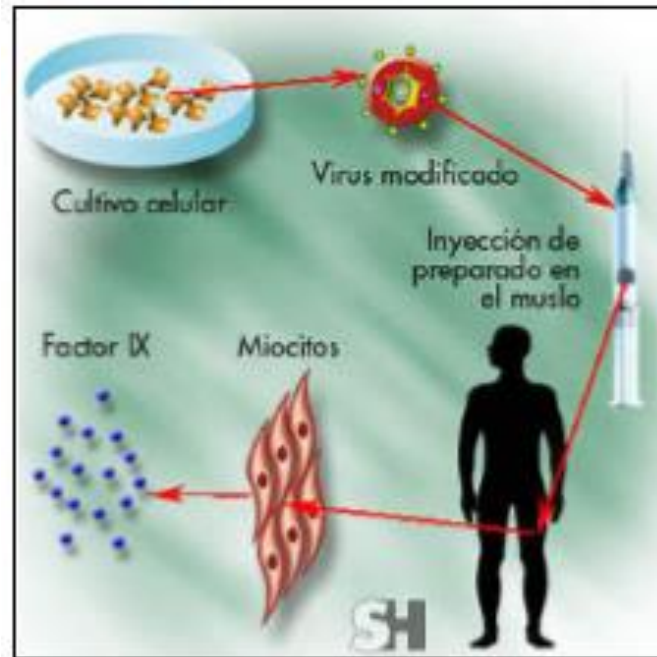


Figura 6 – Representação da terapia gênica.

Fonte: Rodrigues, 2005.

Atualmente, a principal complicação associada ao tratamento da hemofilia está relacionada com a formação de anticorpos neutralizantes dos fatores de coagulação, conhecidos como inibidores (MOLINA, 2013; CHAVES & RODRIGUES, 2008; ROSSET, 2013; PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009). O uso repetido na terapia de reposição de FVIII leva alguns portadores da hemofilia A a desenvolverem anticorpos anti-fator VIII; enquanto, os hemofílicos B quase nunca desenvolvem inibidores de FIX, pois as preparações deste fator são pouco imunogênicas (SCHILLER, 2008).

Molina (2013, p.27) estima que em cerca de 30% dos pacientes hemofílicos ocorra uma resposta imunológica ao serem tratados com rFVIII ou rFIX. Essa formação de anticorpos torna a quantidade de fatores de coagulação administrada aos pacientes menos efetiva e/ou ineficiente para o tratamento da hemofilia. A síntese de anticorpos anti-FVIII e anti-FIX é iniciada quando o FVIII ou FIX exógeno é endocitado e degradado dentro de uma célula apresentadora de antígenos (APC). (PIOI, OLIVEIRA & REZENDE, 2009). Porém, é importante salientar que os inibidores não ocorrem em todos os pacientes hemofílicos (SCHILLER, 2008).

A terapia gênica combinada com a terapia celular, ou seja, a manipulação gênica de células-tronco mesenquimais (CTMs) possuem uma grande aplicabilidade terapêutica como estratégia para correção de defeitos genéticos *in vivo* com a vantagem de não causar respostas

adversas no paciente (FERNANDES, ALMEIDA & OLIVEIRA, 2011). Além disso, a combinação da terapia gênica e celular pode constituir um sistema eficiente para a expressão prolongada da proteína de interesse, a qual fica direcionada a um órgão ou tecido específico.

Segundo Fernandes, Almeida e Oliveira (2011, p. 244),

em conjunto com sua ação terapêutica direta, as CTMs também podem ser a unidade produtora de proteína exógena para o tratamento de doenças causadas pela síntese de proteínas mutadas e conseqüentemente inativas, como por exemplo, as hemofilias. Lembrando que as CTMs possuem maior capacidade proliferativa e meia vida superior as células somáticas, o que as torna células alvo para a terapia gênica.

Com base nos estudos desenvolvidos ao longo da história, o principal objetivo do tratamento de pessoas com hemofilia é prevenir o sangramento, principalmente os sangramentos espontâneos, mantendo os níveis desejados de fator de coagulação presente no sangue. Desta forma, com o avanço da terapia gênica, da terapia celular e dos aconselhamentos genéticos em pró da medicina terapêutica, a qualidade e a expectativa de vida de vida do hemofílico, atualmente, é similar a uma pessoa normal. E em um futuro próximo, talvez esses avanços permita o descobrimento definitivo da cura da hemofilia.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hemofilia é uma doença genética hemorrágica provocada pela ausência ou carência acentuada de um dos fatores de coagulação: fator VIII (hemofilia do tipo A) ou fator IX (hemofilia do tipo B), produzidos por um gene recessivo ligado ao cromossomo X. Assim sendo, a sua ocorrência é quase que exclusiva em indivíduos do sexo masculino.

Clinicamente, as hemofilias caracterizam-se por episódios de sangramento, principalmente nos músculos, articulações e tecidos moles que acontecem sem associação com traumas evidentes. Por se tratar de um distúrbio hemorrágico complexo, o portador da doença necessita de terapias adequadas e contínuas para garantirem sua sobrevivência. A complicação mais incidente nos hemofílicos refere-se ao desenvolvimento de inibidores, que são anticorpos direcionados contra os fatores infundidos.

O diagnóstico dessa coagulopatia é realizado através da observação dos sintomas e da execução dos testes de triagem da cascata de coagulação – tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) e o tempo de protrombina (TP) –, assim como a dosagem dos fatores VIII e IX da via intrínseca da cascata. Contudo, o aconselhamento genético é fundamental, pois abrange os processos de transferência gênica e a condição da doença na família.

A base de seu tratamento é a infusão intravenosa de concentrado do fator deficiente (rFVIII ou rFIX), seja pela engenharia genética (DNA recombinante), pela terapia gênica, ou mesmo, como estudos recentes apontam, pela utilização de células-tronco mesenquimais na tentativa de proporcionar uma vida de qualidade os hemofílicos, pois estes indivíduos são dependentes de medidas preventivas diariamente.

Atualmente, as pesquisas ainda não permitiram descobrir a cura definitiva da hemofilia, mas todos os resultados apontam para que esta seja a primeira doença genética a ser tratada definitivamente.

5. REFERENCIAS

- AGOSTINI, D. Polimorfismo no sistema imune e a formação de inibidores anti-fator VIII em pacientes com hemofilia A grave no Rio grande Do Sul. 2011. 98 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular. Porto Alegre, 2011.
- ANTUNES, S. W; THOMAS, S; FUJIMOTO, D. E; VASCONCELOS, R. A; OLIVEIRA, M. H. C. F; DALDEGAN, M. B; PINTO, M. C. C. M; MURAO, M; FOSCHI, N. M; REZENDE, S. M. Manual de tratamento das coagulopatias hereditárias. São Paulo, 2005.
- ASTRA, L. T. D; TRIBIOLI, R; AARESTRUP, J. R. Hemofilia A: um *review* literário. Cuiabá, 2014. p. 47-68.
- BERGER, M. SILVA, W. O. B; SANTI, L; GUIMARÃES, J. A. Hemostasia: uma breve revisão. Lajeado, 2014. Caderno pedagógico, v. 11, nº. 1, p. 140-148.
- CALEGARO, J. U. M. Avaliação clínica após um ano da sinovectomia por samário-153 hidroxapatita em pacientes com artropatia hemolítica. 2007. 64 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas. Brasília, 2007.
- CHAVES, D. G. Avaliações imunogenéticas do desenvolvimento de anticorpos inibidores do fator VIII da hemofilia A. 2010. 118 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Imunologia. Belo Horizonte, 2010.
- CHAVES, D. G; RODRIGUES, C. V. Desenvolvimento de inibidores do fator VIII na hemofilia A. Belo Horizonte, 2008. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 2008.
- CARLOS, M. M. L; FREITAS, P. D. F. S. Estudo da cascata de coagulação sanguínea e seus valores de referência. Mossoró, 2007. Acta Veterinária Brasília, v. 1, nº 2, p. 49-55.
- DIA MUNDIAL DA HEMOFILIA SERVE COMO ALERTA PARA VARIANTE DA DOENÇA. Hemobrás – Empresa brasileira de hemoderivados e biotecnologia. Disponível em: <<http://www.hemobras.gov.br/site/conteudo/noticia.asp?EditeCodigoDaPagina=366>>. Acesso em: 01 de junho de 2015.
- FERNANDES, A. C; ALMEIDA, D. C; OLIVEIRA, L. R. O uso de células-tronco mesenquimais como nova perspectiva de tratamento para hemofilia B. Três Corações, 2011. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v. 9, n. 1, p. 239-257.
- FLORES, R. P. G; BAGATINI, A; SANTOS, A. T. L; GOMES, C. R; FERNANDES, M. S; MOLON, R. P. Hemofilia e Anestesia. Porto Alegre, 2004. Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 54, nº 6, p. 865-871.
- FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. Ribeirão Preto, 2001. Simpósio: Hemostasia e Trombose. Capítulo 1. p. 229-237.
- GARCIA, E. S; CHAMAS, C. I. Genética molecular: avanços e problemas. Rio de Janeiro, 1996. Caderno de Saúde Pública, v. 12, nº 1, p. 103-107.

LEIRIA, L. B. Estudo de duas inversões (INV1 e INV2) no gene do fator VIII e o desenvolvimento de inibidores contra o FVIII em hemolíticos A grave no rio grande do sul. 2008. 100 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular. Porto Alegre, 2008.

MOLINA, E. S. Avaliação de indução de resposta imunológica ao fator VIII da coagulação humano recombinante no modelo murinho de hemofilia A. 2013. 41 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. São Paulo, 2013.

OLIVEIRA, L.H. Levantamento bibliográfico, leitura, fichamento e resenha.2008. Disponível em:<<http://mestradounifae.wikispaces.com/file/view/Levantamento-Fichamento-Resenha.pdf>>. Acesso em 28 de abril de 2015.

PIOI, S.F; OLIVEIRA, G.C. REZENDE, S. M. As bases moleculares da hemofilia A. Belo Horizonte, 2009. Revista da Associação Médica Brasileira, v. 55, nº 2, p. 213-219.

PREVALÊNCIA DAS DOENÇAS RARAS: DADOS BIBLIOGRÁFICOS. Relatórios Orphanet – O portal para as doenças raras e medicamentos órfãos. França. 2014.nº 1. Disponível em: <http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/PT/Prevalencia_das_doencas_raras_por_ordem_alfabetica.pdf>. Acesso em: 29 de abril de 2015.

RODRIGUES, N. C. A. Hemofilia: origem, transmissão e terapia gênica. Lisboa, 2005.

ROSSET, C. Genética, patologia molecular e formação de inibidores anti-FVIII na hemofilia A. 2013. 122 páginas. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Genética e Biologia Molecular. Porto Alegre, 2013.

SAY, A. C. G; GRANITO, R. N; PINTO, K. N. Z; RENNÓ, A. C. M. A fisioterapia na assistência a portadores de hemofilia. São Carlos, 2003. Revista de Biociências, v. 9, nº 1, p. 37-45.

SCHILLER, S. S. Ocorrência de inibidores de fator de coagulação e pacientes hemofílicos atendidos no hemocentro regional de Maringá/PR. 2008. Dissertação submetida para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Médica, Botucatu, 2008.

SOUZA, T. B; DUARTE, L. P; FILHO, J. T, D, S; FERNANDEZ, J. H; MEDINA-ACOSTA, E. Farmacogenética do desenvolvimento de anticorpos inibidores do fator VIII na hemofilia A. Campos dos Goytacazes, 2011. Revista Científica da Faculdade de Medicina dos Campos.vol. 6, nº 1, p. 7-13.

VANDENDRIESSCHE, T; CHUAH, M. K. ClinicalProgress in Gene Therapy: SustainedPartialCorrectionoftheBleedingDisorder in PatientsSufferingfromSevereHemophilia B. Bélgica, 2011. Human Gene Therapy, v.23. p.4–6.