



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

PATRÍCIA MENDES DA COSTA

HEMOFILIAS - UMA ABORDAGEM ATUALIZADA

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO

DR. JOSÉ PEDRO CARDA

FEVEREIRO/2015

LISTA DE ABREVIATURAS

ADAMTS-13 - *A Desintegrin And Metalloprotease with eight Thrombo Spondin-1-like*

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ADNc - Ácido Desoxirribonucleico complementar

AINE's – Anti-inflamatórios Não Esteróides

aPTT – Tempo de Tromboplastina Parcial ativada

ARN – Ácido ribonucleico

ARNm – Ácido ribonucleico mensageiro

CCP – Concentrado de Complexo de Protrombina

CCPa - Concentrado de Complexo Protrombínico Ativado

CWP's - Corpúsculos de Weibel-Palade

DDAVP - Acetato de Desmopressina (1-desamino-8-D-arginine vasopressina)

dL - Decilitro

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

DvW - Doença de von Willebrand

ITI – Indução de Tolerância Imunológica

FII - Fator II

FIX - Fator IX

FIXa - Fator IX ativado

FIXdp - Fator IX derivado do plasma

FIXr - Fator IX recombinante

FVII - Fator VII

FVIIa - Fator VII ativado

FVIII - Fator VIII

FVIIIa - Fator VIII ativado

FVIII dp - Fator VIII derivado de plasma

FVIIIr - Fator VIII recombinante

FvW - Fator de von Willebrand

FvW:Ag – Ratio entre a atividade funcional e os níveis de antígeno do FvW plasmático

FvW:CB – Capacidade de ligação do fator de von Willebrand ao colagénio

FvW:RiCo – Capacidade de o fator de von Willebrand se ligar à Glicoproteína Ib usando o cofator da Ristocetina

FX - Fator X

FXa - Fator X ativado

FXI - Fator XI

FXIa - Fator XI ativado

FXIII - Fator XIII

FXIIIa - Fator XIII ativado

GP - Glicoproteína

HIC – Hemorragia Intra-craniana

HMWM – *High-Molecular-Weight Multimers*

HTA - Hipertensão Arterial

Ig - Imunoglobulina

IU – Unidades Internacionais

LES – Lúpus Eritematoso Sistémico

mL - Mililitro

PHI – Plasma Humano Vírus Inativado

PAI-1/PAI-2 – Inibidores do ativador do plasminogénio

pro-FvW – pró-Fator de von Willebrand

SNC – Sistema Nervoso Central

rFVIIa – Concentrado de Fator VII recombinante ativado

RIPA - Agregação Plaquetar Induzida por Ristocetina

RM – Ressonância Magnética

TAFI – inibidor da fibrinólise ativado pela trombina

TARV – Terapêutica Anti-Retrovírica de alta eficácia

TF – Fator Tecidual

TFPI – Inibidor da Via do Fator Tecidual

TGT – Tempo de Produção de Trombina

t-PA - Activador do Plasminogénio do tipo Tecidual

TP – Tempo de Protrombina

U - Unidades

UB - Unidades Bethesda

ULvWF - Multímeros Ultragrandes de Fator de von Willebrand

u-PA – Activador do Plasminogénio do tipo Uroquinase

VAA – Vírus adeno-associado

VHB - Vírus da hepatite B

VHC - Vírus da hepatite C

VHG - Vírus da hepatite G

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

VKD – Dependentes de vitamina K

RESUMO

As Hemofilias A e B são as deficiências de fatores da coagulação mais comuns e definem-se pela ausência ou diminuição dos níveis de FVIII e FIX, respetivamente. Resultam de mutações nos genes que codificam os referidos fatores e caracterizam-se pela sua hereditariedade ligada ao sexo. A sua apresentação clínica nas formas graves (a maioria) é muito típica, sendo a hemartrose o seu sinal clássico. Nesta situação, mesmo que não exista história familiar, o diagnóstico não apresenta dificuldades significativas. Contudo, no que diz respeito a uma deficiência de FVIII, terá sempre que se descartar a hipótese se estar perante uma DvW e não uma Hemofilia A, devido à semelhança clínica e laboratorial. Nas formas leves, a sua apresentação mais tardia, implica não só excluir a DvW, como a HAA, pelos mesmos motivos. Assim sendo, estes são distúrbios abordados ao longo desta revisão.

A terapêutica da hemofilia sofreu uma tremenda evolução nas últimas três décadas. Atualmente, dispõe-se de concentrados de fator derivados de plasma e recombinantes que, especialmente em países desenvolvidos, permitem a sua administração pelo doente ou família, na sua própria casa. Este progresso permitiu um considerável aumento na sobrevivência e uma marcada redução da incapacidade devidas aos danos articulares característicos da hemofilia. As recomendações terapêuticas assentam numa abordagem profilática contínua iniciada precocemente e mantida pelo menos até ao início da vida adulta. No entanto, poucas certezas existem ainda sobre as doses ótimas a serem administradas, a frequência da sua administração e o momento ótimo em que o doente deve abandonar a terapêutica profilática e iniciar tratamento apenas *on demand*. Já quase ultrapassado o flagelo das infeções pelo HIV, HBV e HCV, a principal e mais grave complicação do tratamento da hemofilia é, nos dias de hoje, o desenvolvimento

de inibidores. Também nesta área é necessário mais estudos que determinem as doses ótimas da ITI e as possíveis vantagens do uso de fármacos adjuvantes. Prevê-se que num futuro próximo sejam desenvolvidos e aprovados concentrados de fator com semi-vidas mais longas e metodologias de terapia génica.

Assim sendo, esta revisão tem como objetivo apresentar os conceitos propostos atualmente pela comunidade científica no que concerne à abordagem da Hemofilia, desde o seu diagnóstico até às complicações do seu tratamento e perspectivas futuras. Com este intuito, foi realizada a pesquisa da literatura científica publicada até 2014 na base de dados PubMed, com recurso aos meios disponibilizados pela Biblioteca do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Após o levantamento dos artigos publicados na área, procedeu-se à seleção dos artigos, inicialmente com base no título e, posteriormente, pela leitura dos resumos daqueles que mostraram ser relevantes. Por último, sempre que possível, obteve-se a versão completa dos artigos cujo resumo demonstrou conter informação pertinente no âmbito da abordagem clínica das Hemofilias.

Palavras-chave: *Hemofilia A, Hemofilia B, Doença de von Willebrand, Hemofilia Adquirida, Hemostase, Cascata da Coagulação, Diagnóstico, Tratamento, Concentrados de Fator, Terapêutica Profilática, Inibidores.*

ABSTRACT

Hemophilia A and B are the most common deficiencies of coagulation factors and are defined by the absence or decreased levels of FVIII and FIX, respectively. They are a result of the gene mutations of FVIII and FIX and are characterized by their sex-linked inheritance. In severe forms, which are the majority, the clinical presentation is typical, with hemarthrosis being the classical sign. Therefore, in the presence of a hemarthrosis, even if there is no family history, the diagnosis does not present significant difficulties. However, if FVIII deficiency is suspected, it's important to discard the hypothesis of a vWD, due to the similar clinical and laboratory features. In mild forms, their later presentation implies not only discard vWD, but also AHA, for the same reason. Consequently, these are two disorders discussed throughout this review. The treatment of hemophilia has undergone tremendous development in the last three decades. Currently, plasma-derived and recombinant factor concentrates are available, especially in developed countries, enabling home infusion therapy by either the patient or his family. This progress has led to a significant increase in survival and a marked reduction of joint damage and consequent disability. Nowadays, prophylactic factor replacement is considered the standard care of hemophilia, starting in early childhood and continuing at least until early adulthood. However, there are few certainties about the optimal doses, its administration frequency and when prophylactic therapy should be stopped. Since the HIV, HBV and HCV infection issue is almost overcome, the main and most serious complication of hemophilia is, these days, the inhibitors development. Also in this field, further studies are needed to determine optimal doses of ITI and the possible advantages of adjuvant drugs. We hope that, in the near future, longer half-life coagulation products and emerging methodology based on gene transfer are developed and approved to hemophilia treatment.

Therefore, this review aims to present the currently proposed concepts by the scientific community regarding the approach of Hemophilia, from diagnosis to treatment complications and future prospects. For this purpose, a search of the scientific literature published until 2014 in the PubMed database was performed, using the resources made available by the Library of Coimbra's University Hospital. After the assessment of articles published in the area, it was performed the article selection, initially based on the title and then by reading the abstracts of those who proved to be relevant. Finally, wherever possible, we obtained a full version of the articles shown to contain in their abstract relevant information within the clinical approach of hemophilia.

Keywords: *Hemophilia A, Hemophilia B, von Willebrand Disease, Acquired Hemophilia, Hemostasis, Coagulation Cascade, Diagnosis, Treatment, Factor Concentrates, Prophylactic Therapy, Inhibitors.*

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	11
HEMOSTASE.....	14
Cascata da coagulação	16
DISTÚRBIOS HEMORRÁGICOS	20
HEMOFILIA CONGÊNITA.....	21
1. Hemofilia A.....	21
O Fator VIII	21
Fisiopatologia.....	22
2. Hemofilia B	23
Fator IX.....	23
Fisiopatologia.....	24
Apresentação Clínica da Hemofilia.....	25
Hemartrose	26
Hemorragia dos tecidos moles	28
Outras manifestações	29
Diagnóstico Diferencial da Hemofilia	31
Manifestações hemorrágicas	31
Anomalias nos tempos de coagulação	33
A. Deficiências Raras de fatores de coagulação	34

B. Doença de von Willebrand	35
Diagnóstico da hemofilia	45
Determinação do fenótipo.....	45
Determinação do genótipo	45
Diagnóstico do estado de portadora e diagnóstico pré-natal	46
Tratamento.....	49
Concentrados de fatores de coagulação	49
Tratamentos Adjuvantes	53
Tratamento <i>on demand</i>	56
Terapêutica Profilática	60
Complicações do tratamento	67
Resposta Imune ao FVIII e FIX exógenos.....	67
Terapia Génica.....	76
Acompanhamento/Seguimento.....	80
HEMOFILIA A ADQUIRIDA (HAA)	81
Fisiopatologia	81
Apresentação Clínica.....	83
Diagnóstico	83
Tratamento.....	84
Acompanhamento/Seguimento.....	86

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	87
AGRADECIMENTOS	93
REFERÊNCIAS	94

INTRODUÇÃO

A hemofilia e a Doença de Von Willebrand (DvW) são, atualmente, as entidades *major* em contexto de discrasias hemorrágicas. A hemofilia tem sido reconhecida desde tempos muito antigos como uma entidade responsável pela ocorrência de hemorragias anormais em indivíduos do sexo masculino, afetando vários elementos de uma mesma família.(1) Este facto despertou grande curiosidade na comunidade científica quando se manifestou na Família Real Europeia,(2) mais concretamente nas gerações descendentes da Rainha Victória, acabando por afetar também as famílias reais da Alemanha, Rússia e Espanha no século XIX e XX.(1)

Após ter sido identificada pela primeira vez como uma entidade clínica no ano de 1813, foi apelidada de “haemorrhiphilia” em 1828, termo que eventualmente evoluiu para o atual “Hemofilia”.(3)

Só em 1926, após a morte de uma adolescente de 13 anos na sequência de uma hemorragia menstrual, com uma história familiar de pelo menos outras quatro mortes por hemorragias severas, o Dr. Erik von Willebrand reconheceu uma condição semelhante à hemofilia, mas que afetava igualmente o sexo feminino e masculino, denominando-a de pseudohemofilia. Esta entidade corresponde então à atualmente denominada Doença de von Willebrand.(2)

Entretanto, em 1944, são distinguidas duas das mais comuns deficiências de fatores de coagulação: FVIII e FIX(1); uma década depois, é identificada na Suécia a causa da DvW, ou seja, a deficiência de FvW. (1, 4) Embora já existisse a noção de que a DvW se acompanhava geralmente de níveis de FVIII diminuídos, é apenas nos anos 70 que se consegue entender a distinção imunológica essencial entre o FVIII e o FvW. Esta

descoberta serviu de base ao importante desenvolvimento a que se tem assistido na abordagem terapêutica tanto da hemofilia, como da DvW.(3)

Em 1964, surgem os crioprecipitados, constituindo o primeiro passo da grande evolução da terapêutica da hemofilia.(1, 4) Neste seguimento, a partir de meados da década de 70, observou-se um avanço considerável na qualidade de vida dos doentes com hemofilia, devido ao desenvolvimento dos primeiros concentrados de fatores de coagulação, o que permitiu a sua administração em casa e potenciou o aparecimento dos regimes profiláticos.(1, 4)

Na sequência desta evolução, observou-se não só uma melhoria na prevenção da deterioração da função articular, mas sobretudo na sobrevivência,(2) que até então era inferior a 20 anos.(3) Ainda nos anos 70, é descoberta a desmopressina, que terá um papel essencial na diminuição do custo da terapêutica nos casos menos graves, com o benefício adicional de não estar associada à transmissão de infeções.(1)

Com a maior acessibilidade a concentrados derivados de plasma, surge uma rápida disseminação das infeções por HIV e HCV nos doentes hemofílicos, levando à morte de muitos deles. Esta tragédia levou à implementação de programas de rastreio de dadores de sangue e processos de inativação viral do sangue doado, assim como a um rápido avanço na produção de concentrados de fator recombinante,(2, 4) que surgiram na década de 90.(3) Todos estes avanços, juntamente com a evolução da terapêutica da infeção por VHC e VIH, levaram a uma grande diminuição da morbilidade, observando-se, novamente, uma melhoria considerável da qualidade de vida destes doentes.(1, 4) Desde então, vários avanços têm sido feitos, essencialmente a nível de terapêutica, esperando-se ainda o surgimento de muitos outros num futuro próximo.

Esta tese tem como objetivo elaborar uma compilação de toda a informação existente no âmbito das hemofilias, dando prioridade às referências mais atualizadas e focando-se em fundamentos essenciais à prática clínica. Será mandatório neste contexto fazer também uma referência às restantes discrasias sanguíneas que, pela sua semelhança clínica, poderão condicionar atrasos significativos no seu diagnóstico.

FISIOLOGIA DA HEMOSTASE

De forma simplista, a hemostase consiste num processo complexo que visa impedir o extravasamento de sangue em situações de lesão vascular, mantendo um equilíbrio entre os processos fisiológicos que levam à formação do tampão hemostático em caso de lesão, e os que preservam o sangue no seu estado fluido em circunstâncias normais.(2, 5) Este processo está dependente da interação entre o endotélio vascular, plaquetas e fatores pró e anticoagulantes. De entre estes fatores, destacam-se o FvW e os fatores envolvidos na cascata da coagulação (Tabela 1). Por fim, terá que ser ativado o sistema de fibrinólise para que se mantenha o equilíbrio.(6)

Tabela 1 – Fatores de Coagulação

Fator	Classificação
Fibrinogénio (FI)	Subunidade de Fibrina
Protrombina (FII)	Serina-Protease VKD
Fator Tecidual (FIII)	Co-fator/Recetor*
FV	Co-fator
FVII	Serina-Protease VKD
FVIII	Co-fator
FIX	Serina-Protease VKD
FX	Serina-Protease VKD
FXI	Serina-Protease
FXII	Serina-Protease
FXIII	Transglutaminase
*Ativo, sem modificação proteolítica VKD – Dependente de Vitamina K	

(Adaptado de Hoffbrand V and Moss P., 2011)(6)

Quando existe uma qualquer lesão vascular e a íntima é lesada, a matriz subendotelial fica exposta à corrente sanguínea, expondo não só o colagénio subendotelial, como o FvW que se encontra ligado pelo seu domínio A3 a esse colagénio. As plaquetas circulantes ligam-se então diretamente ao colagénio exposto (através do recetor $\alpha 2\beta 1$ e da GPIV) e indiretamente através do FvW (através da GPIIb e GPIIb/IIIa), formando uma monocamada que irá servir de suporte à agregação de outras plaquetas,(2) de forma a constituírem o tampão primário. Este tampão encerra a solução de continuidade do vaso, impedindo assim o extravasamento de sangue,(7) e promove a produção de trombina e, subseqüentemente, de fibrina, cuja função primordial é a formação e estabilização do coágulo definitivo.(2, 8)

Após a ligação das plaquetas, estas ficam ativadas, libertando substâncias que promovem o recrutamento de ainda mais plaquetas para o local da lesão e que fornecem os elementos fundamentais à ocorrência da cascata da coagulação.(2) Neste contexto, as plaquetas fornecem uma superfície fosfolipídica aniónica que servirá de base à ligação dos fatores de coagulação,(6) que só assim conseguem catalizar as reações que levam à formação de trombina. A trombina formada irá, por sua vez, funcionar ela própria como um agonista plaquetar, amplificando o recrutamento de plaquetas e a sua ativação.(2, 7)

Ainda relativamente à sua contribuição para a cascata de coagulação, as plaquetas ativadas libertam também o conteúdo dos seus grânulos, sendo que os grânulos densos têm essencialmente moléculas de pequenas dimensões, como o Ca^{2+} (essencial às reações catalizadas pelos fatores de coagulação) e os grânulos α libertam essencialmente proteínas, de que são exemplo as glicoproteínas adesivas (como o FvW), fatores de crescimento, fatores e co-fatores da cascata de coagulação (como o fibrinogénio, FV, FVII, FXI e FXIII) e outros fatores anticoagulantes ou da fibrinólise (como a proteína S e o plasminogénio).(6, 9)

Cascata da coagulação

No que diz respeito à cascata da coagulação, esta consiste num sistema de amplificação, no qual ocorre uma ativação em sequência por proteólise de uma série de proteínas precursoras circulantes (serina-proteases). Este processo surge em resposta a uma lesão vascular e tem como finalidade a geração de trombina que irá converter o fibrinogénio plasmático em fibrina. Esta proteína irá infiltrar o tampão primário e unir de forma mais eficaz as plaquetas que o constituem, reforçando a agregação plaquetar e dando origem a tampões hemostáticos estáveis e definitivos.(6)

A cascata da coagulação é composta essencialmente por 3 complexos enzimáticos: tenase extrínseca (que inicia a cascata da coagulação na maioria dos casos), tenase intrínseca e protrombinase.(2, 6) Cada um dos complexos é composto pela membrana fosfolipídica aniónica fornecida pelas plaquetas, cálcio, uma enzima dependente de vitamina K (VKD) e um cofator não enzimático, sendo que os dois últimos correspondem aos fatores de coagulação.(6) Cada complexo tem como função ativar uma enzima VKD que se irá tornar o componente enzimático do complexo envolvido na reação seguinte. Por fim, irá ser gerada uma pequena quantidade de trombina que irá aumentar a sua própria produção, ativando cofatores não enzimáticos e plaquetas, obtendo-se assim uma maior superfície aniónica para a ativação dos complexos e uma maior eficiência destes,(2, 7) como se pode observar na Figura 1.

A tenase extrínseca resulta da exposição de células que expressam TF (células subendoteliais), no decorrer de uma lesão do endotélio vascular. O TF irá então servir de recetor ao FVIIa, existente na corrente sanguínea, e a sua ligação irá resultar na tenase extrínseca, um potente ativador do FIX e FX (componentes enzimáticos da tenase intrínseca e protrombinase, respetivamente).(2, 5-7)

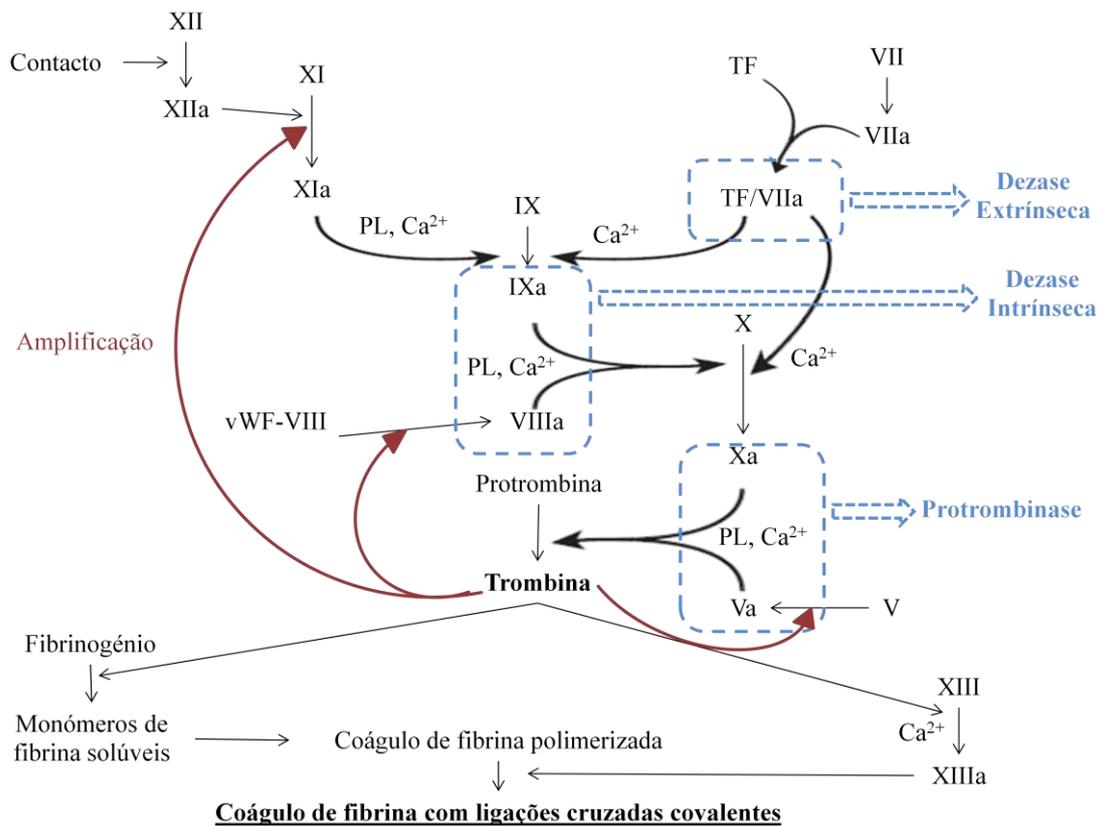


Figura 1 – Diagrama esquemático da hemostase fisiológica

A formação do complexo TF/VIIa leva à ativação do FIX, não ativando diretamente grandes quantidades de FX. O FIXa, juntamente com o FVIIIa, irá formar a tenase intrínseca, cuja função será a ativação de grandes quantidades de FX. Na presença de FVa, o FXa liga-se a este formando a protrombinase, cuja finalidade é a produção de trombina. A trombina, por sua vez, através de um processo de proteólise, irá transformar o fibrinogênio num coágulo de fibrina. A trombina tem a capacidade de amplificar a sua produção ativando o FXI, que também tem a capacidade de gerar FIXa. O FXI pode também ser ativado pelo FXIIa (via de contacto). Esta via não faz parte, no entanto, do processo fisiológico da hemostase, desempenhando um papel mais importante em situações patológicas, como a sépsis.

(Adaptado de Hoffman R. et al, 2012)(2)

Entretanto, o FVIII circula na corrente sanguínea ligado ao FvW, sendo libertado deste complexo e ativado pela ação da trombina. Desta forma, o FVIIIa poderá ocupar o seu local de ligação na plaqueta e ligar o FIXa (ativado na reação anterior), formando a dezase intrínseca, cujo substrato é o FX.(2, 8)

Enquanto isto, o FV existente no plasma numa forma não ativada converte-se na sua forma ativada pela ação da trombina (tal como acontece com o FVIII), sendo também libertado numa forma parcialmente ativada pelos grânulos α das plaquetas ativadas. O FVa pode então ligar-se ao seu local específico na plaqueta e servir de recetor para o FXa (ativado nas reações mediadas pelas tenases intrínseca e extrínseca), formando-se assim a protrombinase, à qual se liga a protrombina, sendo convertida em trombina.(2, 6)

Além desta sequência de eventos, existe ainda outra forma de gerar trombina, conhecida como a via de contacto. A sua importância na hemostase é considerada atualmente pouco relevante, já que a ausência de qualquer um dos fatores que a compõem não acarreta um aumento da propensão hemorrágica.(2, 7)

Esta geração explosiva de trombina tem como finalidade a conversão de fibrinogénio solúvel em fibrina insolúvel, através da libertação dos fibrinopeptídeos A e B. Estes poderão atuar como marcadores da atividade da trombina, originando monómeros de fibrina que se ligam entre si por ligações não covalentes (de carácter instável). A estabilidade da rede de fibrina é conseguida à custa da ação do FXIII, também ativado pela trombina, que cria ligações covalentes cruzadas entre monómeros de fibrina adjacentes.(2, 6, 7)

De referir que a eficiência destes complexos enzimáticos é 10^5 a 10^7 vezes superior à eficiência da serina-protease sem os restantes componentes,(7) além de que a tenase intrínseca ativa o FX a um ritmo 50 a 100 vezes superior ao da tenase extrínseca. Daqui se depreende a importância dos FVIII, FIX e FvW, intervenientes neste complexo, cuja deficiência ou ausência irá comprometer de forma extremamente significativa a

amplificação do FXa e, desta forma, a produção de trombina, pondo em causa a formação de tampões hemostáticos estáveis e o controlo de hemorragias.(2)

O processo de coagulação, tal como qualquer processo fisiológico, sofre também uma regulação negativa, de forma a evitar a produção exagerada de trombina e, em último caso, a produção de trombos que poderão obstruir os vasos sanguíneos localmente ou à distância. Para isso, são essenciais os agentes anticoagulantes, que atuam diretamente no processo de formação de trombina, e a fibrinólise, que atua degradando a fibrina formada. Os agentes anticoagulantes de maior importância consistem no inibidor da via do fator tecidual TFPI, que inibe a ação da tenase extrínseca, a AT, que inibe todas as serina-proteases, e a própria trombina que, ao ligar-se à trombomodulina no complexo proteína C, dá origem à proteína C ativada que atua inativando os cofatores Va e VIIIa. A ação da proteína C ativada é potenciada pela proteína S.(2, 6, 7)

A fibrinólise permite degradar a fibrina em fragmentos solúveis e, desta forma, o tampão hemostático, com o objetivo de controlar os seus limites (impedindo que a coagulação se expanda para locais sem lesão vascular) e restabelecer o fluxo vascular no local lesionado. A degradação de fibrina depende da formação de plasmina, obtida a partir do plasminogénio por ação do ativador do plasminogénio (do tipo tecidual, t-PA), ou uroquinase, u-PA). A regulação deste processo ocorre através de inibidores dos ativadores do plasminogénio, PAI-1 e PAI-2, e da α 2-antiplasmina, que inibe diretamente a plasmina. Existe ainda um componente que permite a ligação entre os sistemas de coagulação e de fibrinólise e que atua como inibidor da fibrinólise ativado pela trombina (TAFI), atrasando a lise do coágulo.(2, 5, 6, 10)

DISTÚRBIOS HEMORRÁGICOS

Os distúrbios hemorrágicos poderão ser causados quer por alterações vasculares e/ou plaquetárias, quer por anomalias no processo de coagulação, associadas à deficiência de um dos seus fatores, podendo esta deficiência ser hereditária ou adquirida. Os fatores mais frequentemente envolvidos neste processo patológico são o FVIII, FIX e FvW, cuja deficiência dá origem, respetivamente, à Hemofilia A, Hemofilia B e DvW.(6)

Desta forma, os distúrbios da hemostase podem ser divididos em três grupos consoante o momento do processo de formação do coágulo em que ocorre a alteração, podendo ser distúrbios primários, secundários e terciários.(2)

Os distúrbios primários ocorrem ao nível da formação do tampão primário, nomeadamente ao nível da adesão e agregação plaquetar. Dentro deste subgrupo, encontramos patologias resultantes da anomalia da função das plaquetas, deficiência ou disfunção do FvW(2, 5) e alterações na resposta vasoconstritora.(2)

Os distúrbios secundários contemplam as alterações que irão levar à diminuição da produção de trombina e, conseqüentemente, de fibrina. Estão englobadas neste grupo as deficiências congénitas ou adquiridas dos fatores de coagulação e a toma de fármacos que inibam um ou mais passos da cascata, assim como a deficiência ou disfunção congénita ou adquirida do fibrinogénio (afibrinogenemia, hipofibrinogenemia e disfibrinogenemia) e deficiência do fator XIII.(2)

Existem ainda distúrbios terciários, cuja alteração reside num aumento da função do sistema fibrinolítico.(2)

HEMOFILIA CONGÊNITA

As Hemofilias A e B são deficiências hereditárias ligadas ao sexo, respetivamente do FVIII e FIX, que resultam de mutações nos genes que os codificam,(11) que se localizam junto à extremidade do braço longo do cromossoma X.(2) Apesar da hereditariedade desta condição, até 1/3 dos doentes não têm história familiar, estando presente uma mutação de novo.(2, 4, 11)

Representam, no seu conjunto, a deficiência congénita mais comum de um fator da coagulação(12), com uma incidência global de 1 em 5 000 nascimentos do sexo masculino,(1, 2, 13) representando a hemofilia A cerca de 80% dos casos,(11, 12, 14) tendo a hemofilia B uma incidência de 1 em 30 000.(1) A maioria dos doentes apresenta um fenótipo severo da doença (70%),(13) sendo que apenas 15% dos doentes hemofílicos têm um fenótipo moderado.(15)

Embora seja rara a existência de doença severa ou moderadamente severa em mulheres, esta poderá estar presente em situações como homozigotia ou heterozigotia composta de mutações em *F8* e lionização – inativação aleatória de um cromossoma X.(2, 16)

1. Hemofilia A

O Fator VIII

O gene do fator VIII (*F8*) está localizado no Xq28, a banda mais distal do braço longo do cromossoma X.(2, 8, 13) É uma estrutura complexa e de grandes dimensões,

com 186 kb de comprimento, (2, 8, 13) consistindo em 9 kb de ADN(2) organizado em 26 exões.(2, 8, 13)

A sua estrutura consiste em 3 domínios principais: A, B e C, (13) organizados como é possível observar na Figura 2.

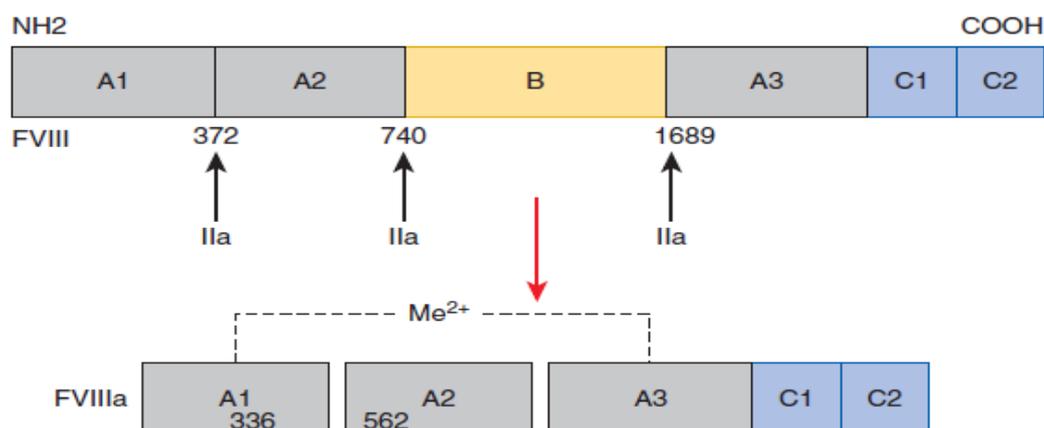


Figura 2 - Representação da estrutura do FVIII e dos locais onde ocorre a sua ativação pela trombolina (IIa).

(Adaptado de Hoffman R. *et al.*, 2012)(2)

A produção do FVIII dá-se principalmente ao nível do fígado(2, 8) e das células endoteliais dos vasos sanguíneos.(2) Depois de sintetizado, o FVIII é libertado para a circulação sanguínea onde forma um complexo com o FvW plasmático (ver “Doença de von Willebrand – DvW”).(2, 8)

A função, ativação e inativação do FVIII foram já abordadas neste documento (ver “Cascata da Coagulação”).(2, 8, 11)

Fisiopatologia

Ao contrário da Hemofilia B, a maioria das mutações responsáveis pelo aparecimento da Hemofilia A resultam de uma mutação recorrente, na qual existe uma inversão envolvendo sequências do intrão 22. Esta mutação está sempre associada a um

fenótipo severo e é responsável por, aproximadamente, 45 a 50% dos casos de hemofilia A severa.(2, 8, 13) Existe ainda uma outra inversão recorrente, esta envolvendo o intrão 1, e que é responsável por 2 a 5% dos casos de hemofilia A severa.(2, 13) As restantes mutações responsáveis por esta patologia englobam mais de 1000 alterações diferentes, cujos mecanismos são extremamente diversos, incluindo mutações *missense*, *nonsense*, *frameshift*, por inserção ou deleção e *splicing*.(2, 13)

Após a realização de vários estudos extensos sobre os genótipos e fenótipos da hemofilia A, pode concluir-se que existe uma boa correlação entre estes dois componentes da doença, observando-se doença severa em indivíduos com mutações nulas e doença moderada ou leve na maioria das mutações *missense*.(2, 13) com o fenótipo a permanecer consistente com uma determinada mutação quer dentro de uma família, quer entre famílias.(2)

2. Hemofilia B

Fator IX

O gene do fator IX (*F9*) está localizado na banda citogenética Xq27.1 e engloba 34 kb de ADN. (2, 8, 16) É composto por 8 exões que originam um ARNm de 1,4 kb, sendo expresso unicamente nos hepatócitos, onde ocorre uma extensa modificação pós-translacional. (2, 8)

O FIX é uma glicoproteína de cadeia simples dependente de vitamina K(8, 16) e a sua estrutura é homóloga à das restantes proteínas da coagulação VKD (Figura 3).(2, 16) O seu papel na cascata da coagulação(16) foi enunciado anteriormente (ver “Cascata da Coagulação”).

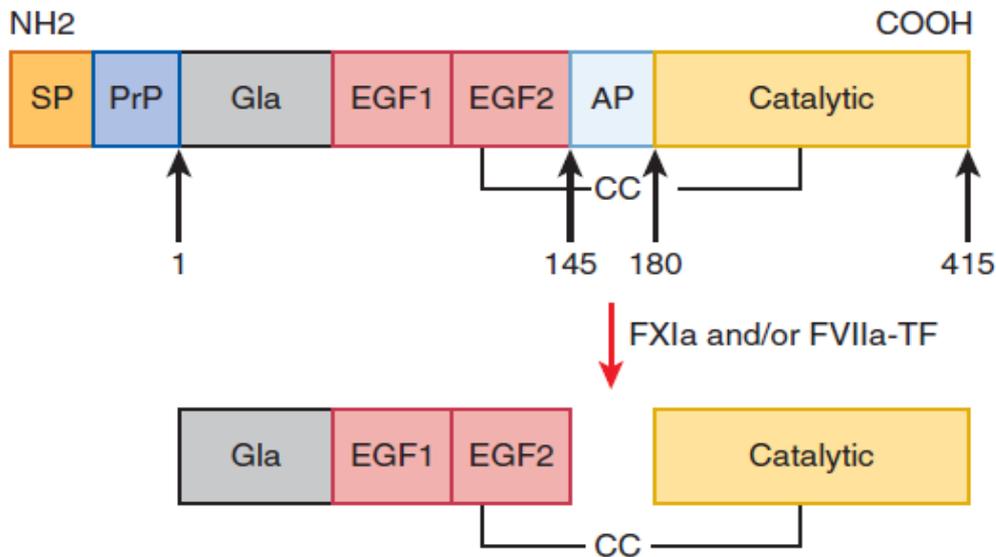


Figura 3 - Representação da estrutura do FVIII e dos locais onde ocorre a sua ativação e posterior inativação

Observa-se o domínio Gla, responsável pela sua ligação ao Ca^{2+} e, conseqüentemente, à membrana fosfolipídica, o peptídeo de ativação, que é removido aquando da ativação do FIX, e o domínio catalítico, responsável pela atividade enzimática.(8)

(Adaptado de Hoffman R. et al, 2012)(2)

Fisiopatologia

Diferindo da hemofilia A, na hemofilia B mais de 90% das mutações são pontuais e, devido ao elevado *turnover* deste gene, não existem mutações recorrentes comuns.(16) Apesar da predominância das mutações *missense* (75%), muitos outros mecanismos podem levar à ocorrência de hemofilia B, inclusivamente todo o conjunto de alterações *nonsense*, inserções ou deleções e *splicing*.(2)

As diferentes mutações traduzem quadros clínicos distintos. Um dos mais marcantes consiste na Hemofilia B de Leyden, na qual os níveis de FIX aumentam gradualmente de menos de 5% ao nascimento até mais de 30% após a adolescência, que condiciona a ocorrência de episódios hemorrágicos e sinais e sintomas consistentes com hemofilia na infância, que regridem depois da puberdade.(2)

Apresentação Clínica da Hemofilia

Os sintomas e sinais clínicos de hemofilia A e B são idênticos e estão relacionados com uma tendência aumentada para a ocorrência de hemorragias, que é determinada, em grande parte, pelos níveis basais do fator afetado (Tabela 2).(4, 8, 11, 14)

Tabela 2 – Classificação da gravidade da Hemofilia e manifestações clínicas associadas

Gravidade	Níveis de fator de coagulação	Manifestações	Idade usual do diagnóstico
Severa	<1% (<0.01 U/mL)	Hemorragia espontânea, predominantemente nas articulações e músculos	1º ano de idade
Moderada	Entre 1 e 5% (0.01-0.05 U/mL)	Hemorragia espontânea ocasional. Hemorragia excessiva e prolongada com trauma ou cirurgia.	Antes dos 5 a 6 anos
Leve	Entre 5 e 40% (0.01-0.4 U/mL)	Hemorragia excessiva e prolongada com trauma ou cirurgia.	Muitas vezes na idade adulta

(Adaptado de Tantawy AAG, 2010)(13)

Apesar desta associação, a gravidade e frequência das hemorragias variam consideravelmente entre indivíduos com o mesmo nível de atividade do fator de coagulação em causa,(4, 13) existindo também uma diferença significativa entre a Hemofilia A e B.(4) Os motivos para estas diferenças não foram ainda estudados, mas são avançadas algumas hipóteses, que incluem o tipo de mutação genética em causa e que é considerada o principal determinante no fenótipo de determinado doente.(13)

Estas manifestações de diátese hemorrágica podem ser evidentes logo desde o período neonatal, especialmente em recém-nascidos com hemofilia severa, com a ocorrência de HIC após o parto. Esta situação é mais comum quando não existe história familiar de hemofilia,(4) impedindo assim que sejam tomadas as devidas medidas de precaução.(2)

Contudo, a forma de apresentação mais frequente de formas severas da doença é o aparecimento de equimoses frequentes, hemartroses ou hemorragias dos tecidos moles entre os 6 e os 18 meses de idade, quando a criança adquire maior mobilidade e, conseqüentemente, está mais sujeita a traumas.(4, 17)

Hemartrose

As formas severas de hemofilia apresentam um padrão hemorrágico muito característico e facilmente reconhecível, que poucas vezes é observado noutros distúrbios hemorrágicos. Destaca-se neste padrão a hemartrose, que constitui um sinal clássico,(2, 18) representando cerca de 70 a 80% de todos episódios hemorrágicos em doentes hemofílicos.(11, 19)

A sua localização é variável, sendo mais comum nos tornozelos, joelhos e cotovelos,(4, 8, 11, 14, 19) muitas vezes referidas como *Index joints*, embora possa ocorrer em qualquer outra articulação, nomeadamente ombros, ancas e pulsos.(11, 19) As articulações menos vulgarmente envolvidas são as da mão e do pé.(2)

A hemartrose pode ser espontânea ou estar associada a qualquer tipo de trauma, muitas vezes impercetível, nomeadamente durante o sono. Os doentes conseguem, geralmente, reconhecer sintomas iniciais, como a sensação de *tingling* ou “aura” ao nível da articulação afetada, antes dos aparecimento das manifestações clássicas de dor, tumoração, aumento da temperatura cutânea local e redução da mobilidade articular, (11, 19) permitindo o reconhecimento da hemartrose pelos doentes em estádios muito precoces.(2)

Hemorragias recorrentes das articulações levam ao desenvolvimento de artropatia crónica, que se apresenta atualmente como a principal causa de morbidade nos doentes com hemofilia.(14, 18-20)

Os danos articulares causados pela hemorragia podem ser devidos a três mecanismos distintos: inflamação, distensão mecânica da articulação e toxicidade do ferro.(2, 19) A inflamação está associada a hipertrofia do tecido sinovial, (2, 4, 11, 19) que passa a ser crónica quando ocorrem hemorragias repetidas na mesma articulação: “articulação alvo”.(4, 11) Apesar da definição de “articulação alvo” ainda não estar completamente estabelecida, é geralmente aceite que uma articulação deva ser considerada como “alvo” quando sofre três ou mais episódios hemorrágicos em seis meses.(2, 11) O seu significado clínico reside no ciclo vicioso que é criado quando a hemorragia leva ao desenvolvimento de sinovite que, devido à hipertrofia e hiperémia que lhe é característica, aumenta o risco de novas hemorragias.(2, 4, 18, 19)

Em fases mais avançadas, observa-se uma destruição extensa da cartilagem articular, perda progressiva do espaço interarticular e alterações quísticas no osso subcondral,(11, 18, 19) que poderão levar ao colapso das superfícies articulares e consequentes deformações angulares.(11) Isto conduz a uma mobilidade cada vez mais limitada, com consequente atrofia muscular e osteoporose do membro afetado, resultando no agravamento da função articular.(2, 4) Na fase final deste processo, a articulação apresenta-se já deformada e disfuncional, sendo as hemorragias articulares menos frequentes à medida que a hipertrofia sinovial se torna menos proeminente,(2) podendo também a dor diminuir ou mesmo desaparecer.(11)

A avaliação do *status* articular dos doentes com hemofilia num determinado momento ou ao longo do tempo exige, na maioria das vezes, um exame físico cuidado a par de exames imagiológicos.(2)

No âmbito da imagiologia, as radiografias desempenham um papel importante devido à sua fácil acessibilidade e baixo custo. No entanto, mostram apenas lesões osteocondrais tardias(2, 11, 18) e obrigam à exposição a radiações.(2) A RM, pelo contrário, não utiliza radiação e é o método mais sensível,(4, 21) pois permite identificar alterações dos tecidos moles assim como lesões osteocondrais.(2, 11, 18) Por outro lado, a RM tem um elevado custo, está muito menos acessível e obriga à sedação de crianças pequenas.(18) Por estes motivos, tem sido dada cada vez mais importância à ecografia na avaliação das alterações agudas e crónicas das articulações, já que tem um custo muito menor, não requer sedação e é facilmente acessível.(18, 20)

Hemorragia dos tecidos moles

Os músculos representam o segundo local mais frequente de hemorragia nos indivíduos hemofílicos, que se manifesta por dor e/ou tumoração e incapacidade funcional,(11) afetando mais frequentemente, por ordem decrescente, os músculos da região posterior da perna, da coxa, das nádegas e do antebraço.(2)

Além das hemorragias musculares, existem ainda hematomas dos tecidos moles, que podem ser superficiais ou profundos, podendo os profundos ser potencialmente fatais, devido às grandes perdas sanguíneas que causam. São exemplos as hemorragias retroperitoneais e os hematomas do pescoço que, neste caso concreto, podem ainda causar compressão das vias aéreas.(2)

As hemorragias musculares e dos tecidos moles, se não forem convenientemente tratadas, poderão ainda originar pseudotumores com conseqüente compressão de estruturas neurovasculares e ocorrência de fraturas patológicas,(11) ou levar ao desenvolvimento de síndrome compartimental, uma situação de emergência devido ao potencial compromisso do membro.(2, 11)

Outras manifestações

Estão ainda presentes outras manifestações de diátese hemorrágica, embora menos comuns ou transversais à maioria dos restantes distúrbios hemorrágicos (Tabela 3).(2, 11, 13)

Tabela 3 – Possíveis manifestações clínicas da Hemofilia

Hemartrose, especialmente na ausência de trauma ou por traumas leve
Hematomas musculares profundos
HIC na ausência de trauma major
Cefalohematoma ou HIC neonatal
Exsudação hemática prolongada ou hemorragia após hemostase inicial na sequência de extrações dentárias, lesões da mucosa oral ou circuncisão
Hemorragia prolongada ou hemorragia após hemostase inicial na sequência de traumas ou cirurgias*
Hemorragia gastrointestinal (hematemeses, hematoquézias, melenas) ou hematúria inexplicadas*
Menorragia, especialmente na menarca*
Epistáxis prolongadas, especialmente se recorrentes e bilaterais*
Equimoses frequentes, especialmente na presença de hematomas subcutâneos
*De qualquer gravidade, com maior frequência em doentes com fenótipos mais severos

(Adaptado de Tantawy AAG, 2010)(13)

De salientar que as hemorragias gastrointestinais podem ser maciças e, portanto, potencialmente fatais.(2) A HIC, embora represente apenas 5% das manifestações hemorrágicas nestes doentes,(11) é a manifestação hemorrágica com maior risco, sendo atualmente uma das três causas de morte em doentes com hemofilia, juntamente com a infecção por HIV e HCV.(2)

Diagnóstico Diferencial da Hemofilia

A suspeita clínica de hemofilia inicia-se habitualmente com uma história familiar positiva, em que muitas das vezes o diagnóstico é pré-natal (ver capítulo “Diagnóstico do estado de portadora e diagnóstico pré-natal”). Quando isto não acontece, a investigação diagnóstica de um doente com hemofilia inicia-se geralmente com a apresentação de sinais e sintomas de hemorragia excessiva ou com resultados anómalos nas provas de coagulação.(2)

Mais ainda, a investigação de um doente com queixas hemorrágicas deverá sempre contemplar a realização das provas de coagulação básicas, que permitam direcionar a restante investigação.(8, 11)

Desta forma, o diagnóstico diferencial de um doente com suspeita de hemofilia contempla diferentes hipóteses, dependendo da existência de resultados dos exames laboratoriais, motivo pelo qual este capítulo será apresentado com base nestes dois grupos.

Manifestações hemorrágicas

Na presença de sinais e sintomas de hemorragia excessiva em idades precoces, as hipóteses diagnósticas colocadas devem abranger a grande maioria dos distúrbios hemorrágicos congénitos, já abordados no respetivo capítulo e que se encontram resumidos na Tabela 4.(2)

Tabela 4 – Condições congênitas responsáveis por manifestações hemorrágicas

Patologia	Descrição
Defeitos do fibrinogénio	Inclui hipofibrinogenemias leves a moderadas até afibrinogenemia, assim como disfibrinogenemias.
Hemofilia	Deficiência de FVIII ou FIX
Deficiências raras de fatores da coagulação	Deficiência do FXI, V, II, VII ou X. Poderão também existir deficiências combinadas de vários fatores (p.ex. FV e FVIII ou múltiplos fatores VKD devido a defeitos congénitos da γ -carboxilação)
Defeitos da fibrinólise	Por ganho de função (α 2-antiplasmina ou deficiência de PAI-1) ou ganho de função (p. ex. do uPA - distúrbio plaquetar de Quebec)
vWD	Defeitos quantitativos ou qualitativos.
Defeitos Plaquetares	Co alteração do número ou função plaquetares, ou ambos. <ul style="list-style-type: none"> •Defeito nos recetores de membrana (p. ex. Trombastenia de Glanzman, Síndrome de Bernard-Soulier, deficiência de P2Y₁₂) •Defeitos de sinalização ou secreção •Defeitos do citosqueleto •Defeitos de armazenamento (p.ex. Síndrome das Plaquetas cinzentas, deficiência de grânulos densos) •Defeitos da função pró-coagulante (p.ex. Síndrome de Scott)
Defeitos Vasculares	Malformações vasculares congénitas (p.ex. telangiectasias hemorrágica hereditária, Síndrome de Ehlers-Danlos)

(Adaptado de Hoffman R. *et al.*, 2012)(2)

Esta lista de patologias pode ainda ser reduzida atendendo às características das hemorragias que, na presença das manifestações típicas de hemofilia já descritas e de acordo com a Tabela 5, nos deixa com os distúrbios hemorrágicos secundários: as deficiências de fatores da coagulação e os defeitos do fibrinogénio.(2)

Tabela 5 – Principais características clínicas de acordo com o tipo de distúrbio hemorrágico

Características	Primários	Secundários	Terciários
Componentes envolvidos	Plaquetas, vWF e parede vascular	Fatores da coagulação	Fatores da fibrinólise
Sítios comuns de hemorragia	Pele e mucosas e tecidos moles	Músculos, articulações e tecidos profundos	Feridas e trato genitourinário
Achados físicos	Petéquias e Equimoses	Hematomas e Hemartroses	Hematúria e Menorragia
Tempo de hemorragia	Imediata	Tardia	Tardia

(Adaptado de Hoffman R. *et al.*, 2012)(2)

Em relação às manifestações hemorrágicas leves, de que são exemplo o aparecimento frequente de equimoses e as hemorragias prolongadas após extrações dentárias ou procedimentos cirúrgicos, estas podem ter uma manifestação mais tardia na vida do doente. Assim, além de distúrbios congénitos de menor gravidade, devem também ser colocados como hipóteses diagnósticas os distúrbios adquiridos da coagulação. Estes podem ser consequência da utilização de fármacos antitrombóticos (agentes antiplaquetares e anticoagulantes) ou podem ser resultado do desenvolvimento de autoanticorpos contra fatores da coagulação, como por exemplo a Hemofilia A adquirida.(2)

Anomalias nos tempos de coagulação

O estudo de um doente com manifestações hemorrágicas deve englobar a realização de contagem plaquetar, TP, aPTT,(8, 11, 13) e testes de função plaquetar como a agregometria e o PFA-100.(22) Com os resultados destes testes, o diagnóstico é direcionado para um determinado grupo de distúrbios, como é visível na Tabela 6.(11)

Tabela 6 – Principais características laboratoriais de acordo com o tipo de distúrbio hemorrágico

Diagnóstico possível	TP	aPTT*	Contagem plaquetar
Hemofilia A ou B**	Normal	Prolongado*	Normal
vWD	Normal	Normal ou Prolongado*	Normal ou reduzida
Defeito Plaquetar	Normal	Normal	Normal ou reduzida

*Os resultados do aPTT são extremamente dependentes do método utilizado pelo laboratório

**O mesmo padrão pode ocorrer na presença de deficiências do FV, FXI,FXII, fibrinogénio, protrombina e, eventualmente, FX.

(Adaptado de Hoffman R. et al, 2012 e Srivastava A. *et al.*,2012)(2, 11)

Como se pode concluir do que até aqui foi descrito, tanto a DvW como algumas deficiências raras de fatores da coagulação podem apresentar não só uma clínica muito semelhante à da hemofilia, como resultados das provas de coagulação sobreponíveis. No entanto, a sua distinção é imperiosa, já que as abordagens terapêuticas irão diferir consoante o mecanismo fisiopatológico em causa. Por este motivo, segue-se uma breve revisão das deficiências raras da coagulação e, devido à sua prevalência significativa, uma revisão ligeiramente mais alargada da DvW.

A. Deficiências Raras de fatores de coagulação

As deficiências raras de fatores de coagulação englobam as deficiências de fibrinogénio, protrombina, FV, FV+FVIII, FVII, FX, FXI e FXIII, e cursam com distúrbios hemorrágicos de hereditariedade autossómica recessiva.(23-25) Representam apenas 2 a 5% de todas as deficiências hereditárias de fatores de coagulação, e a sua incidência varia de 0,5 por milhão para o FII e o FXIII (a mais rara) até 1 em 500 000 para o FVII (a mais comum).(23, 25)

Devido ao número diminuído de indivíduos com estas patologias, a informação existente relativamente às suas manifestações clínicas, tratamento e base genética é ainda muito escassa.(23-25) Sabe-se, no entanto, que a sua clínica pode ser extremamente variada, desde manifestações leves até distúrbios hemorrágicos severos, o que dificulta o diagnóstico,(25) uma vez que a associação entre a gravidade clínica e os níveis do fator em falta é muito heterogênea, especialmente na deficiência de FV, FVII e FXI.(24)

O seu tratamento passa pela administração do fator em falta sempre que este estiver disponível, nomeadamente no FXI, FVII, fibrinogénio e FXIII. As deficiências de protrombina e FX têm indicação para administração de concentrado de complexo de protrombina (CCP). Se não for possível a administração dos produtos referidos, deverá recorrer-se à administração de plasma humano vírus-inativado (PHI), que também está indicado no tratamento da deficiência de FV.(26)

B. Doença de von Willebrand

→ O Fator von Willebrand (FvW)

O FvW corresponde a uma glicoproteína adesiva plasmática de estrutura multimérica, composta maioritariamente por dímeros de 500 kDa polimerizados linearmente, que lhe confere um peso molecular que pode variar entre os 500 kDa e 12 000 kDa.(27, 28) Esses dímeros são formados por 2 subunidades de pro-FvW, cuja estrutura consiste na repetição de 4 domínios identificados pelas letras de A a D, através de ligações *tail-to-tail*, sendo que, posteriormente, os dímeros são unidos entre si por ligações *head-to-head*, dando origem aos multímeros já referidos (Figura 4).(29) Todo este processo de síntese do FvW tem lugar maioritariamente nas células endoteliais, mas também nos megacariócitos.(2, 6, 27-29)

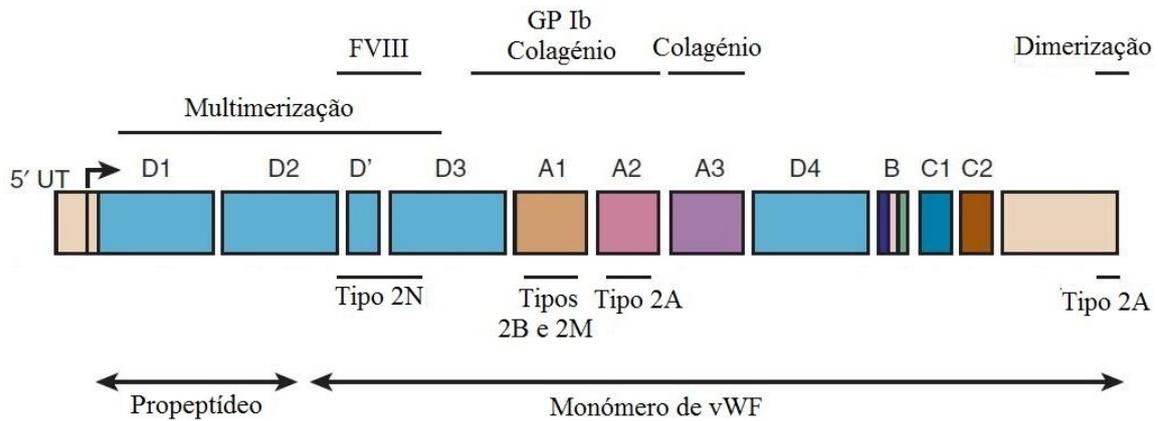


Figura 4 – Domínios Funcionais do FvW e localizações das variantes de DvW do tipo 2

(Adaptado de Hoffman R. et al, 2012)(2)

Grande parte do FvW produzido nas células endoteliais é libertado continuamente(6, 8, 30) ligando-se ao colagénio subendotelial, enquanto o restante, correspondente aos multímeros de alto peso molecular (HMW) com maior atividade biológica, permanece armazenado nos Corpúsculos de Weibel-Palade (CWP's).(6, 28, 30) O FvW produzido nos megacariócitos permanece armazenado nas plaquetas, mais concretamente nos grânulos específicos α , permitindo aumentar o seu nível plasmático em resposta a diversos estímulos como o stresse, exercício, adrenalina e infusão de desmopressina,(6) sendo libertado na forma de multímeros de muito alto peso molecular (ULvWF) altamente ativos, com a capacidade de se ligarem espontaneamente às plaquetas.(2) Esta atividade é regulada pela proteólise mediada pela ADAMTS-13,(2, 28) que resulta na clivagem do ULvWF em multímeros menores e monoméricos, cuja função é consideravelmente reduzida.(6, 28, 31)

Por outro lado, o FvW libertado continuamente e que se encontra em circulação não tem a capacidade de reagir com plaquetas quiescentes, devido à sua conformação que impede a exposição do seu domínio A1 e que difere da conformação alongada adquirida

pelo FvW imobilizado na matriz subendotelial. No entanto, na presença de forças de cisalhamento, o FvW poderá também adotar uma conformação alongada, permitindo assim ligar-se a plaquetas adjacentes, unindo-as.(2, 30)

As suas principais funções foram já referidas e são não só na hemostase primária, com a adesão das plaquetas à parede vascular lesada e a agregação plaquetar, como na coagulação sanguínea, com o transporte do fator VIII. (8, 30, 32-34) Este transporte ocorre através da ligação do FVIII ao domínio D'D3 do FvW (28) e tem como finalidade impedir a sua degradação proteolítica, o que resulta num aumento muito significativo da sua semivida. No que diz respeito à agregação plaquetar, a função do FvW é especialmente importante em situações de cisalhamento, já que as plaquetas não conseguem manter a sua ligação ao colagénio sob estas forças sem que o FvW atue como intermediário.(2)

Em relação à *clearance* do FvW, muito pouco é ainda conhecido dos seus mecanismos e local onde decorre; no entanto, vários estudos têm demonstrado que este processo poderá estar dependente dos macrófagos do fígado e do baço, sem relação com o tamanho dos multímeros. Contudo, a *clearance* é influenciada por múltiplos fatores, estando aumentada devido a alterações na glicosilação, mutações pontuais e em indivíduos com grupo sanguíneo 0.(35)

Os níveis basais de FvW são muito variáveis, com valores normais situados entre as 50 e as 200 IU/L,(36) em função de fatores como o genótipo AB0, que afeta a proteólise do FvW pela ADAMTS-13 (37) e a *clearance* do FvW da circulação,(35) resultando em níveis 25% inferiores em relação aos indivíduos não-0.(38) Outros fatores incluem o genótipo secretor, a raça e a idade, em que os afro-americanos apresentam níveis de FvW 15% superiores aos níveis dos indivíduos de raça branca e o aumento da idade está

também associado a níveis mais altos de FvW.(38, 39) Mais ainda, os níveis de FvW variam dentro de um mesmo indivíduo em resultado de estímulos β -adrenérgicos, como por exemplo exercício e stresse psicológico, drogas, fármacos, gravidez (com níveis 3 vezes superiores aos basais no final do terceiro trimestre), libertação de DDAVP, intervenções cirúrgicas, traumas e doenças crónicas, como o hipertiroidismo, insuficiência renal, diabetes, doença hepática, aterosclerose, estados de inflamação crónica e doença neoplásica.(34)

Uma outra variação fisiológica dos níveis de FvW está diretamente relacionada com os níveis de estrogénios em mulheres pré-menopáusicas, observando-se uma variação cíclica em que o pico mais baixo se localiza na fase folicular precoce e o pico mais alto corresponde à fase lútea.(40) Daqui se depreende que os contraceptivos orais aumentem os níveis de FvW e impeçam a sua variação cíclica, especialmente com doses de etinilestradiol iguais ou superiores a 0.5 mg.(2)

Devido a esta grande variação de valores e à relativamente baixa associação entre os valores de FvW e o aparecimento de manifestações hemorrágicas, torna-se difícil determinar um valor abaixo do qual se considere que determinado doente tenha DvW. No entanto, estudos apontam para valores inferiores a 30 IU/dL como bons indicadores da existência de mutações genéticas.(28)

→ **O gene do FvW**

O gene do FvW está localizado no braço curto do cromossoma 12,(8, 30, 41) mais concretamente no 12p13.3, e ocupa 178 kb, sendo composto por 52 exões que dão origem a um ARNm de 9kb.(32, 41)

O FvW é um gene altamente polimórfico, composto por 4 segmentos homólogos repetidos, nomeados de A a D, cuja sequência é encontrada em muitas outras localizações do genoma, fazendo parte de múltiplas proteínas.(41)

Muitas das mutações responsáveis pelos tipos 2 e 3 da DvW foram já identificadas, no entanto, as alterações genéticas associadas ao tipo 1 ainda não foram completamente compreendidas.(32)

→ **Doença de von Willebrand**

A DvW é causada por uma deficiência quantitativa ou qualitativa de FvW plasmático(28, 32) e consiste na discrasia hemorrágica hereditária mais frequente, afetando cerca de 1 a 2% da população em geral, em contexto de testes de rastreio.(30, 32, 42-44) No entanto, a estimativa da sua prevalência nos doentes que recorrem aos cuidados primários e que apresentam manifestações hemorrágicas significativas é de apenas 1 em 1000.(42, 43) A prevalência da DvW cuja sintomatologia é suficientemente grave para exigir referência a centros especializados é significativamente menor e varia de 20 a 113 por milhão.(30, 36)

Os estudos epidemiológicos na DvW e o seu próprio diagnóstico apresentam limitações específicas devido à variabilidade dos níveis de FvW na população e ao amplo espectro de manifestações, que variam desde sintomas hemorrágicos *minor* pouco frequentes, até hemorragias maciças com elevada frequência, pelo que a prevalência e diagnóstico da DvW estão extremamente dependentes dos critérios diagnósticos utilizados.(2) Por este motivo, com o objetivo de uniformizar os critérios de diagnóstico da DvW, foram elaborados recentemente um questionário e um *score* hemorrágico (*Bleeding Score*), que permitem estabelecer *cut-offs* quantitativos para diferenciar indivíduos doentes de indivíduos saudáveis.(45)

Apesar de a deficiência de FvW consistir num distúrbio primário da hemostase com características variáveis de distúrbio secundário devido à sua influência nos níveis de FVIII, as principais manifestações são decorrentes da não formação ou formação anómala do tampão primário. São consideradas manifestações associadas à DvW a epistáxis, menorragia, hemorragias cutâneas, cirúrgicas, após o parto, extrações dentárias e feridas *minor*. Em situações em que os níveis de FVIII atingem valores significativamente baixos, poderão existir manifestações típicas de hemofilia leve ou moderada, em que os doentes experienciam hemorragias articulares e musculares.(28, 30)

→ **Classificação**

A classificação atual da DvW contemporiza aspetos do fenótipo clínico, mecanismos fisiopatológicos e, conseqüentemente, considerações terapêuticas, dividindo-se em três tipos principais (Tabela 7).(28, 30, 32)

Tabela 7 – Tipos de Doença de von Willebrand

Tipo 1	Defeito quantitativo parcial do FvW.
Tipo 2	Defeito qualitativo do FvW.
	2A Variantes causadas por uma deficiência seletiva de HMWM e conseqüente comprometimento da adesão plaquetar.
	2B Afinidade aumentada para a GP Ib.
	2M Defeito marcado na adesão plaquetar, mas com multímeros de FvW de características relativamente normais.
2N Diminuição marcada da afinidade do FvW para o FVIII.	
Tipo 3	Ausência completa de FvW.

(Adaptado de Hoffman R. et al, 2012)(2)

De realçar que esta classificação assenta não no genótipo do doente, mas nas características fenotípicas do FvW, já que podem ser avaliadas através de testes laboratoriais facilmente acessíveis.(28, 32)

→ **Fisiopatologia e diagnóstico**

1. DvW tipo 1

A DvW do tipo 1 caracteriza-se por níveis de FvW entre as 5 e 30 IU/dL, ocorrendo em 60 a 80% dos casos de DvW.(30) O parâmetro laboratorial fundamental no diagnóstico do tipo 1 da DvW é o *ratio* normal entre a atividade funcional e os níveis de antígeno do FvW plasmático (FvW:Ag), já que o defeito que caracteriza esta condição é apenas uma diminuição na concentração do FvW, e não na sua função.(28)

É causada essencialmente por defeitos na secreção ou por uma *clearance* aumentada, que podem ser causados por mutações de carácter dominante (mais frequentemente) (30) ou recessivo.(28)

2. DvW tipo 2

A DvW do tipo 2 representa cerca de 10 a 30% dos casos(30), existindo 3 subtipos, 2A, 2B, 2M e 2N (Tabela 7).

a. DvW tipo 2A

É a variante mais comum do tipo 2, representando cerca de 10% de todos os casos de DvW.(2) Pode resultar de uma deficiência na formação dos multímeros a partir das subunidades do FvW ou de um aumento da suscetibilidade à ADAMTS-13, com

hereditariedade maioritariamente dominante, mas com algumas variantes recessivas.(2, 28)

A perda de HMWM resulta numa diminuição desproporcionada da interação FvW - plaquetas, com conseqüente diminuição do FvW:RCo ou da interação FvW-tecido conjuntivo, que se traduz numa diminuição do FvW:CB, relativamente ao FvW:Ag,(28) que se traduz num *ratio* inferior a 0,6.(2)

b. DvW tipo 2B

Este tipo caracteriza-se por um aumento na RIPA para baixas concentrações de ristocetina, devido a uma interação aumentada do FvW com a GPIb α .(2, 28) Os doentes com DvW tipo 2B apresentam muitas vezes trombocitopenia variável, devido à formação de agregados plaquetares,(2) que pode ser exacerbada por stresse ou desmopressina.(28) Apresentam também uma proporção reduzida de multímeros FvW, devido ao aumento marcado da proteólise pela ADAMTS-13, causado pela ligação espontânea às plaquetas.(2, 28) Como resultado, são transformados em multímeros pequenos que, não só não são capazes de mediar uma adesão plaquetar eficiente, como se ligam às plaquetas, impedindo a sua interação com o tecido conjuntivo.(28)

c. DvW tipo 2M

O tipo 2M diferencia-se do tipo 2A pelo facto de apresentar níveis normais de HMWM, ou seja, a sua produção e secreção é quase normal, no entanto a molécula apresenta um defeito funcional que impede a sua ligação às plaquetas ou ao subendotélio. Isto traduz-se, tal como no tipo 2A, por uma diminuição desproporcional do FvW:RCo ou do FvW:CB, relativamente ao FvW:Ag.(2, 28)

d. DvW tipo 2N

As mutações que levam a este tipo de fenótipo podem também manifestar-se de forma dominante ou recessiva,(28) das quais a maioria (aproximadamente 80%) se localiza no domínio D'D3.(2)

Laboratorialmente, caracteriza-se por uma diminuição desproporcional dos níveis de FVIII face ao FvW:Ag, sendo que o diagnóstico terá que ser confirmado pela medição da afinidade do FvW para o FVIII (FvW:FVIII),(2, 28) cujos valores, nesta situação, são geralmente inferiores a 0.1. Os níveis de FVIII correlacionam-se com o tipo de mutação responsável pela DvW tipo 2N, sendo significativamente mais baixos para mutações que levam a um compromisso severo na ligação do FVIII ao FvW. Este é um dado importante no que diz respeito à terapêutica, já que doentes com mutações menos severas poderão ser tratados com bons resultados com DDAVP, cuja eficácia já não será satisfatória em doentes com mutações mais severas.(28)

Esta variante do tipo 2 tem especial relevo no âmbito da abordagem clínica das hemofilias já que pode ser confundida com hemofilia A leve, especialmente em indivíduos do sexo masculino, sem antecedentes familiares sugestivos de hereditariedade ligada ao cromossoma X,(28) tendo por estes motivos que ser tida em consideração no diagnóstico diferencial de níveis baixos de FVIII com níveis normais de FvW.(2)

3. DvW tipo 3

Atendendo a que a DvW tipo 3, responsável por 1 a 5% dos casos,(30) se manifesta por uma ausência completa de FvW, esta é uma patologia que se manifesta apenas em homozigotia,(28, 30) sendo que os familiares que possuem a mutação em heterozigotia

geralmente apresentam manifestações hemorrágicas leves ou um fenótipo normal. Os testes laboratoriais mostram, na maioria dos casos, níveis inferiores a 5 IU/dL de FvW:RCo, FvW:CB e FvW:Ag,(28) sendo os níveis de FVIII inferiores a 10 IU/dL.(28, 30)

Atendendo à gravidade deste tipo de DvW, diretamente relacionada com os baixos níveis de FvW e FVIII, a sua apresentação clínica torna-se muito semelhante à da hemofilia A moderada ou severa.(30)

→ **Tratamento**

Regra geral, os doentes com DvW tipo 1 respondem à administração de DDAVP, (26, 28, 30, 33, 46) embora a presença de FvW:Ag inferior a 10 IU/dL indique um aumento não significativo nos níveis de FvW e FVIII.(28) Os doentes com tipo 2 e 3 geralmente não respondem à administração de DDAVP, pelo que o tratamento passa essencialmente pela administração de concentrados de FVIII/FvW, também indicada nos doentes do tipo 1 que não respondem à administração de DDAVP.(26, 28, 30, 33, 46) Doentes com fenótipos severos, nomeadamente com DvW tipo 3, poderão ser candidatos a terapêutica profilática de longa-duração.(30, 46) Como tratamentos adjuvantes, poderão também ser utilizados, à semelhança de outros distúrbios hemorrágicos, antifibrinolíticos, concentrados de plaquetas e anticoncepcionais.(30)

Diagnóstico da hemofilia

A confirmação diagnóstica de hemofilia depende da realização de exames que confirmem a apresentação do seu fenótipo, ou seja, diminuição dos níveis de fator VIII ou IX, ou que mostrem a presença de alterações características no seu genótipo.(2, 13, 16)

Determinação do fenótipo

O doseamento do FVIII ou FIX pode ser realizado de duas formas distintas, dependendo da técnica de cada laboratório. A maioria dos laboratórios realiza um teste *one-stage* baseado no aPTT para quantificar o FVIII. No entanto, existem também testes *two-stage* ou testes com substrato cromogénico.(22) Esta última alternativa implica um tempo de incubação mais longo, o que poderá influenciar os resultados. Estas proteínas mutantes podem, por vezes, passar despercebidas num teste *one-stage*, mas são facilmente identificadas num teste *two-stage* ou cromogénico, cujo tempo de incubação é mais longo.(2) Daqui se depreende que, em doentes com clínica hemorrágica, valores normais de FVIII num teste *one-stage* e na medição do aPTT, já que este é a base do primeiro, não excluem a existência de hemofilia, razão pela qual todos os centros de hemofilia devem ter a capacidade de realizar testes *two-stage*.(22)

A medição dos níveis do fator de coagulação irá também permitir classificar a doença em 3 graus de gravidade, de acordo com os valores já definidos aquando da abordagem das “Manifestações Clínicas”.(11, 16)

Determinação do genótipo

O diagnóstico genético implica a análise do ADN que, atualmente, consegue identificar aproximadamente 98% das mutações responsáveis pela hemofilia A e B.(2)

A estratégia de análise genética depende do tipo de hemofilia e da gravidade do fenótipo. Por exemplo, todos os doentes com hemofilia A severa são inicialmente rastreadas para as mutações recorrentes por inversão no intrão 22 e intrão 1 do *F8*,⁽²⁾ nomeadamente por PCR,⁽¹³⁾ enquanto nos doentes com hemofilia B é necessário recorrer à análise sequencial completa do promotor, região codificadora e locais de *splicing* do *FIX*.⁽²⁾

De referir que o diagnóstico da hemofilia consiste na existência de baixos níveis de atividade do FVIII ou FIX, não sendo necessária a realização de um estudo molecular para comprovar a presença desta patologia. No entanto, os testes de genética molecular revestem-se de grande utilidade na abordagem de doentes com hemofilia, estando as suas principais indicações indicadas na Tabela 8.^(11, 13)

Tabela 8 – Aplicações Clínicas dos testes de genética molecular na hemofilia

- Identificação da mutação de uma determinada família, de forma a poder realizar-se aconselhamento genético dos elementos da família em risco.
- Identificação da mutação de um indivíduo com mutação *de novo*, podendo assim prever-se qual o seu fenótipo clínico e avaliar-se o risco de desenvolvimento de inibidores.
- Identificação da mutação de uma determinada família, para que se possa realizar o teste para identificação de portadoras em elementos da família em risco.
- Identificação da mutação de uma determinada família, para que se possa realizar diagnóstico pré-natal e diagnóstico pré-implantatório em gravidezes em risco.

(Adaptado de Tantawy AAG, 2010)⁽¹³⁾

Diagnóstico do estado de portadora e diagnóstico pré-natal

Embora a hemofilia seja uma doença que afeta essencialmente indivíduos do sexo masculino e as mulheres sejam apenas portadoras,^(8, 11) estas poderão ter também níveis diminuídos de fatores da coagulação associados a um aumento do risco

hemorrágico(11, 13) e, por outro lado, existe o risco de transmissão da mutação às gerações seguintes. As que apresentam níveis diminuídos podem, embora seja uma situação rara, apresentar fenótipos de hemofilia severa (ver “Hemofilia Congénita”). (8, 11, 13, 16)

Os parentes em primeiro grau do sexo feminino de doentes com hemofilia devem ser submetidos a doseamentos do FVIII ou FIX,(11, 13) especialmente antes de intervenções cirúrgicas ou parto ou se existirem manifestações hemorrágicas.(11)

No entanto, uma abordagem mais definitiva consiste na identificação da mutação causadora, recorrendo a métodos de genética molecular, possibilidade que deve ser oferecida, se disponível, às mulheres em risco de serem portadoras, de forma a facilitar o aconselhamento genético e possibilitar a realização de diagnóstico pré-natal.(11, 13)

O diagnóstico pré-natal da hemofilia está indicado essencialmente nas famílias com formas moderadas ou severas da doença (13) e deve ser iniciado pela determinação do sexo do feto. Para isso, pode recorrer-se a um de dois métodos disponíveis: ecografia após as 11 semanas de gestação(11) ou identificação de ADN livre do feto no sangue materno após as 7 a 9 semanas. Neste último, se for confirmada a presença de sequências do cromossoma Y, pode-se confirmar de forma definitiva o sexo do feto.(11, 13).

Assim, se o feto for do sexo feminino, não está indicada a realização de mais testes.(2) Se o feto for do sexo masculino, poderá estar indicada a realização de testes de genética molecular em amostras das vilosidades coriônicas, entre as 9 e as 14 semanas. Em alternativa, poderá realizar-se amniocentese entre as 15 e as 18 semanas de gestação.(8, 11, 13)

Estes procedimentos têm um risco de perda fetal de 1% e devem ser realizados o mais precocemente possível se o seu objetivo passar pela decisão de realizar uma interrupção médica da gravidez. O diagnóstico pré-natal será também útil no planejamento do parto, embora não exista consenso sobre a abordagem obstétrica ótima em relação ao parto de recém-nascidos hemofílicos.(2, 13)

Recentemente, as técnicas de genética molecular e fertilização permitem oferecer também aos casais com antecedentes familiares da doença a possibilidade de diagnóstico genético pré-implantatório.(13)

Tratamento

A abordagem de doentes com hemofilia é complexa e deverá ser realizada em centros de referência, por equipas multidisciplinares. Estas devem incluir idealmente um hematologista com experiência no tratamento da hemofilia, um enfermeiro, um profissional do sistema musculo-esquelético (fisioterapeuta/fisiatra, reumatologista/ortopedista), um técnico de laboratório e um assistente social ou psicólogo.(2, 4, 11) Deverão ainda estar disponíveis para consulta sempre que necessário um especialista em dor crónica, um dentista, um geneticista, um obstetra/ginecologista, um hepatologista, um imunologista, um infeciologista (2, 11) e, devido ao número crescente de doentes idosos, um cardiologista.(2)

O tratamento da hemofilia assenta em dois aspetos fundamentais: a prevenção e o tratamento de hemorragias. (4, 11) Para isso, dispomos atualmente de concentrados de fatores de coagulação, que nos permitem substituir o fator em falta, entre outros produtos adjuvantes.(2, 11)

Concentrados de fatores de coagulação

A principal componente do tratamento das hemorragias em doentes com hemofilia consiste na reposição do fator em falta.(2, 11, 14) Recomenda-se para isso a utilização de concentrados de fatores de coagulação derivados de plasma submetidos a métodos eficientes de inativação viral, assim como fatores de coagulação recombinantes,(2, 11, 47) estando também recomendada a educação dos doentes e das suas famílias no que respeita à administração dos concentrados em casa.(11, 14)

Atualmente, a administração de concentrados de fatores de coagulação derivados do plasma não está associada à transmissão de VIH, VHB ou VHC,(2) no entanto, existe

ainda o risco da transmissão de doenças mediadas por príons.(11) Existem, neste campo, dois grandes grupos de concentrados: os *high purity* e os *intermediate purity*. Enquanto os primeiros dizem respeito a concentrados que contêm apenas um determinado fator de coagulação, os segundos têm, além do fator de coagulação em causa, outros fatores, nomeadamente o FvW nos concentrados de FVIII(2, 11, 47) e o FVII, FX, protrombina, proteína C e S nos concentrados de FIX, também chamados de CCP's. Estes últimos são considerados, atualmente, de utilidade limitada no tratamento da hemofilia B, devido ao risco de trombose que lhes está associado.(2, 11)

Atendendo a que a maior limitação no tratamento da hemofilia reside, atualmente, no desenvolvimento de inibidores, torna-se importante esclarecer se existe diferença significativa neste aspeto entre os concentrados derivados de plasma e os recombinantes e, dentro destes últimos, entre as diferentes moléculas.(47) Neste contexto existem já alguns estudos realizados, embora com resultados contraditórios: existem dados que tendem a mostrar um maior desenvolvimento de inibidores com os concentrados de fator recombinante do que com os concentrados derivados do plasma,(4, 48) enquanto outros estudos não demonstram haver diferença significativa(4, 49). Face a estes resultados contraditórios, pensa-se que as diferenças encontradas no que diz respeito ao desenvolvimento de inibidores sejam devidas a variáveis de confundimento, levando a crer que de facto não exista uma diferença significativa.(47, 49)

Assim sendo, não existem indicações sobre a preferência de concentrados de fator recombinantes ou derivados de plasma, de forma que esta escolha se encontra a cargo do centro de tratamento.(11)

A quantidade de fator que é necessário administrar é função de várias variáveis. O tipo de hemorragia e/ou procedimento, por si só, estão associados a diferentes níveis de

fator de coagulação que é necessário o doente atingir, de forma a conseguir assegurar uma boa hemostase. Por outro lado, o tipo de fator influencia as quantidades que é necessário administrar para serem conseguidos os níveis desejados. Mais concretamente, em doentes sem inibidores 1 U/kg de FVIII_{dp}/FIX_{dp} aumenta os níveis de FVIII/FIX em 2 U/dL e 1 U/dL, respetivamente, enquanto que a administração de 1 U/kg de FIX_r irá aumentar os níveis de FIX em apenas 0,8%, por motivos ainda não conhecidos.(11) A Tabela 9 (2, 4) demonstra vários exemplos da associação destes três conceitos.

Tabela 9 – Relação entre tipo de hemorragia e dose de concentrado de fator a administrar

Local da Hemorragia	Nível de fator desejado (%)	Hemofilia A (rFVIII) (U/kg)	Hemofilia B (rFIX) (U/kg)
Mucosa Oral	>30	20	40
Epistáxis	>30	20	40
Músculos ou Articulações	>50	30	50
Trato Gastrointestinal	>50	30	50
Trato Genitourinário	>50	50	75
SNC	>100	75	125
Trauma ou Cirurgia	>100	75	125

(Adaptado de Hoffman R. *et al.*, 2012)(2)

O número de doses a administrar irá depender da duração do tratamento, que varia conforme o tipo de hemorragia ou procedimento, assim como da semivida do fator em causa. Neste contexto, o FVIII exibe uma semivida de aproximadamente 8 a 12 horas, enquanto que o FIX tem uma semivida de cerca de 18 a 24 horas,(8, 11) implicando uma administração de *bólus* de concentrado adicionais se existir a necessidade de manter, durante um certo período de tempo, níveis mais elevados de fator.(2, 11)

Em alternativa à administração de *bólus* de concentrado repetidos, poderá optar-se pela infusão contínua de fator de coagulação, evitando assim as variações dos seus níveis que poderão criar estados de sub ou sobredosagem, embora seja necessária a monitorização frequente dos níveis de fator.(2, 11)

Como perspetiva futura, espera-se que sejam comercializadas moléculas de FVIII e FIX com semi-vidas mais longas.(1, 8, 50) Atualmente, estão já em desenvolvimento concentrados de FIX de longa-ação,(1) com semividas 2,5 vezes maiores que os concentrados aprovados até ao momento. Já as tentativas de criar concentrados de FVIII de longa-ação, têm resultado em aumentos da semivida de apenas 1,6 vezes.(12)

A administração de fatores de coagulação pode ser feita de forma profilática ou *on demand*, de acordo com o descrito na Tabela 10 e na Figura 5, e que será descrito com maior pormenor nos capítulos seguintes.

Tabela 10 – Modalidades Terapêuticas na Hemofilia

Regime	Definição
Profilaxia primária determinada pela idade	Tratamento contínuo de longa-duração* com início antes dos 2 anos de idades e antes da ocorrência de qualquer hemorragia clinicamente evidente.
Profilaxia primária determinada pela primeira hemorragia	Tratamento contínuo de longa-duração* com início antes de existir lesão articular (usualmente definido como não tendo ocorrido mais do que uma hemartrose), independentemente da idade.
Profilaxia Secundária	Tratamento contínuo de longa-duração* que não preenche os critérios de profilaxia primária.
Profilaxia de curta-duração	Tratamento de curta-duração com intenção de prevenir hemorragias
Terapêutica <i>on demand</i>	Tratamento administrado aquando da ocorrência de hemorragias

*Com intenção de tratar 52 semanas por ano até à idade adulta

(Adaptado de Berntorp E. *et al.*, 2003)(51)

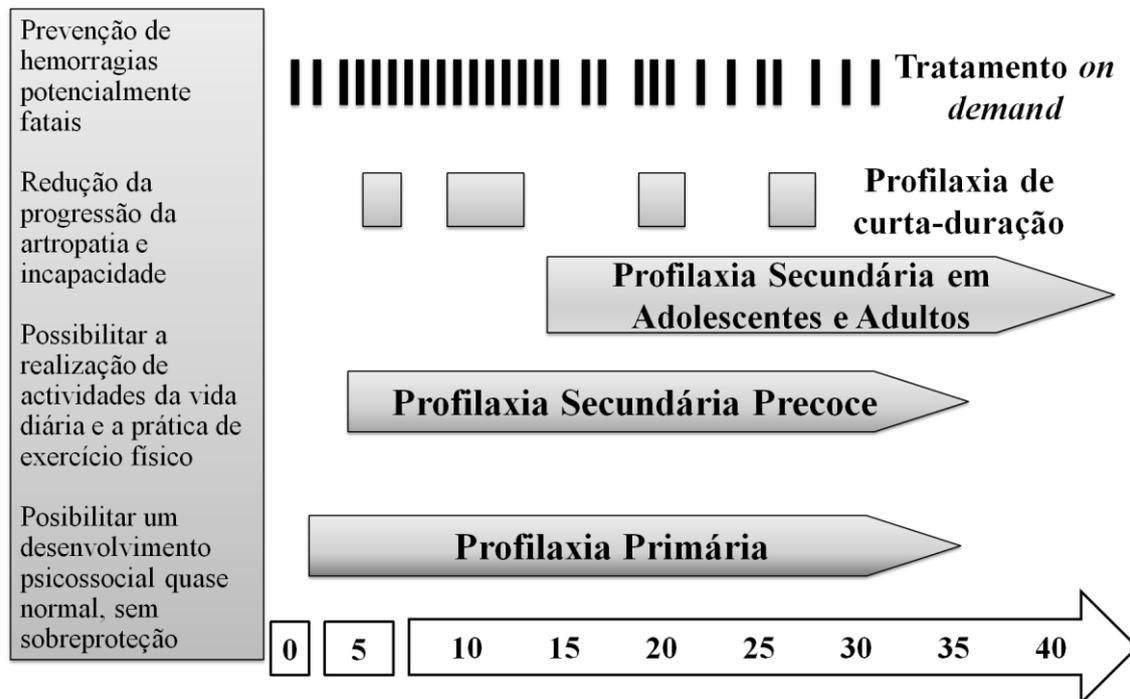


Figura 5 – Diagrama esquemático das modalidades terapêuticas
 Relação temporal das diferentes modalidades terapêuticas utilizadas nos doentes com hemofilia, a par dos seus objetivos terapêuticos.
 (Adaptado de Coppola A. *et al.*, 2008)(52)

Tratamentos Adjuvantes

Os tratamentos adjuvantes têm, no doente com hemofilia, um importante papel no controlo da hemorragia, diminuindo a necessidade de utilizar concentrados de fatores de coagulação.(11)

A. Desmopressina (DDAVP)

A DDAVP consiste num análogo da vasopressina que leva à libertação plasmática de FvW dos CWP's,(2) assim como de FVIII,(2, 8) cujo mecanismo ainda não é claro, mas que poderá estar associado à existência de fontes endoteliais de FVIII identificadas recentemente.(2, 30) Esta última poderá aumentar até duas a seis vezes os níveis de atividade coagulante do FVIII.(8, 11, 53) Mais ainda, a DDAVP aumenta também a capacidade de adesão das plaquetas, diminuindo assim o tempo de

hemorragia, com as vantagens de não ter associado qualquer risco de infecção ou desenvolvimento de anticorpos e o seu custo ser consideravelmente menor que os concentrados de fator de coagulação. Em relação aos efeitos secundários, apresenta poucos e, quando presentes, são essencialmente de carácter leve e transitório.(2, 53) Pode ser administrada de forma cómoda, por via subcutânea ou intranasal, estando também disponível para administração intravenosa.(8, 14, 53) Devido a estas características, é considerada o tratamento de escolha nos doentes com hemofilia A e atividade coagulante do FVIII superior a 5%.(53)

No entanto, determinados genótipos da hemofilia não respondem convenientemente à administração de DDAVP, podendo mesmo existir respostas clinicamente não relevantes em doentes com genótipos favoráveis,(14, 54) além de que as crianças apresentam, geralmente, respostas inferiores às dos adultos.(53) Posto isto, antes da sua utilização terapêutica, todos os doentes deverão ser submetidos a medições dos níveis de FVIII e FvW antes e 1 a 4 horas depois da administração da DDAVP, por forma a ser avaliada a resposta de cada doente a este fármaco.(2, 11, 14, 26, 53)

Existem, no entanto, algumas desvantagens na sua utilização, como o são o efeito antidiurético que caracteriza a vasopressina e a diminuição da sua eficácia com administrações repetidas (taquifilaxia) decorrente do gasto das reservas de FvW e FVIII,(2, 53) o que justifica a sua não administração por períodos de tempo superiores a 3 dias.(14, 26) A atividade antidiurética está ainda associada a complicações potencialmente graves, como a hiponatremia e conseqüente risco de atividade convulsiva, especialmente em crianças e doentes com excesso de aporte de fluidos,(53) motivo pelo qual muitos médicos optam por não administrar DDAVP a crianças com menos de 2 a 3 anos,(2, 26) nem a doentes com insuficiência cardíaca(53) ou com anomalias do sódio. Se administrada nestes doentes, deve ser feita uma monitorização

rigorosa(26) e, quando administrada em doses repetidas, está indicada restrição de fluidos.(53) Um outro grupo de doentes em que a DDAVP deve ser evitada consiste nos doentes com aterosclerose, devido ao efeito que a DDAVP tem na adesão plaquetar.(14, 26, 53)

B. Antifibrinolíticos

Os antifibrinolíticos, como o ácido tranexâmico e o ácido ϵ -aminocapróico, são especialmente úteis como agentes adjuvantes dos concentrados de fator ou da DDAVP, independentemente da gravidade da hemofilia,(14) e têm a sua principal indicação nas hemorragias das mucosas,(8, 11) em que exista um alto potencial fibrinolítico, como a orofaringe, nariz, trato GI e transição útero-vaginal.(2) Assim sendo, a sua utilização mais comum consiste na hemorragia oral e procedimentos dentários.(2, 11, 14) A principal contraindicação para estes fármacos é a hematúria, devido à alta incidência de obstrução ureteral que causam.(2, 8, 14)

C. Colas de fibrina

As colas de fibrina consistem numa mistura de fibrinogénio e trombina que são aplicadas diretamente no local da lesão,(8) promovendo não só a hemostase, como também a cicatrização. O seu uso tem aumentado em doentes com hemofilia, nomeadamente na redução da hemorragia em procedimentos dentários, circuncisão e após extração de pseudotumores hemofílicos.(2)

Tratamento on demand

O tratamento *on demand* tem como objetivo controlar uma hemorragia ativa, devendo ser administrado o mais brevemente possível, de preferência dentro de um período de 2 horas, de forma a prevenir todas as suas possíveis complicações (Ver “Manifestações Clínicas”).(11)

A. Tratamento de casos específicos

- **Hemorragias potencialmente fatais**

Em situações de hemorragia grave que possam colocar a vida do doente em risco, nomeadamente hemorragias da cabeça (HIC), pescoço, tórax e trato gastrointestinal e hemorragias compartimentais livres, como os hematomas retroperitoneais e do escroto, é mandatório que o tratamento com a reposição do fator em causa seja iniciado imediatamente, mesmo antes da abordagem diagnóstica estar completa.(2, 11)

- **Hemartrose**

A ocorrência de hemartrose implica, em regra, terapêutica hemostática, administrada assim que possível e de preferência ainda na fase de “aura”,(11) de forma a minimizar a extensão da hemorragia e a reduzir o risco de desenvolvimento de sequelas a longo prazo,(2) sendo geralmente feita com a administração de 40 IU/kg de FVIII no momento da hemorragia, seguida de nova infusão de 20 IU/kg às 24 e às 72 horas.(14)

No entanto, além da terapêutica hemostática, também o repouso da articulação, analgesia e fisioterapia, (2, 11, 19) com início assim que o doente a tolerar,(19) são de elevada importância, devendo ser instaurado o protocolo RICE (repouso, gelo, compressão e elevação do membro)(2, 11) pelo menos nas primeiras 24 horas.(2)

A realização de artrocentese na hemartrose hemofílica é controversa. No entanto poderá estar indicada para a exclusão de artrite séptica ou como uma forma de alívio da dor em hemartroses de elevado volume(2, 11) ou que não melhoram num prazo de 24 horas.(11)

As complicações da hemartrose podem ter várias abordagens, nomeadamente através da sinovectomia cirúrgica ou artroscópica, sinovectomia não cirúrgica (química ou com radionucleotídeos), artrodese ou artroplastia.(2) A sinovectomia, independentemente da modalidade escolhida, tem indicação em casos de sinovite crónica(11, 19). Em relação à modalidade cirúrgica ou artroscópica, embora esta diminua a frequência das hemorragias, já que a sua fonte é retirada, não aumenta a mobilidade articular, podendo mesmo piorá-la.(2, 19) Além disso, implica a administração de grandes quantidades de fator, hospitalização e fisioterapia intensiva.(19) Atualmente, o procedimento de escolha consiste na sinovectomia radioisotópica, realizada através da injeção de Yttrium⁹⁰ ou Fosfato Crómico P³², no espaço articular.(11, 19) Em comparação com a sinovectomia cirúrgica, este é um procedimento menos invasivo, associado a um período de internamento inferior e com uma necessidade menor de fator de coagulação, sendo também, desta forma, menos dispendioso e mais indicado na presença de inibidores.(2, 19)

Atendendo a que os objetivos principais na abordagem terapêutica das complicações da hemartrose consistem no alívio da dor e na melhoria da capacidade funcional do membro afetado, a fisioterapia e uso de ortóteses surgem como procedimentos essenciais tanto em situações de hemorragia aguda, como na abordagem de danos articulares a longo-prazo.(2, 11)

- **Hemorragias Musculares**

As hemorragias musculares devem ser identificadas e tratadas precocemente para, assim, prevenir a contractura permanente, novas hemorragias e a formação de pseudotumores. O tratamento é em tudo semelhante ao da hemartrose, no entanto, se existir compromisso neurovascular ou hemorragia do músculo psoas ilíaco, deve ser realizado tratamento prolongado com concentrados do fator apropriado, por vezes superior a uma semana.(11)

A síndrome compartimental, devido ao risco de neuropatia permanente, necrose ou mesmo necessidade de amputação do membro, deverá ser considerada uma emergência, e o tratamento consiste na reposição urgente do fator e fasciotomia.(2)

- **Portadoras**

As portadoras com níveis de fator de coagulação baixos devem ser tratadas consoante a gravidade da doença, de forma semelhante à dos doentes com hemofilia, sendo que a DDAVP tem aqui especial utilidade, nomeadamente durante a gravidez, mais concretamente nos 2 primeiros semestres.(53) As menorragias, uma das mais comuns manifestações nestas doentes, podem ser controladas com agentes antifibrinolíticos e a toma da pílula anticoncepcional.(11)

- **Parto**

No caso de mulheres portadoras de hemofilia, o parto deve ser precedido de um doseamento dos fatores de coagulação e, se os seus níveis forem inferiores a 50 U/dL, está indicada a terapêutica de substituição com fator de coagulação.(11) O nascimento de recém-nascidos com o diagnóstico suspeito ou confirmado de hemofilia deve ser

atraumático, independentemente do facto de ser por via vaginal ou cesariana,(11)
evitando a utilização de ventosas ou fórceps.(2, 11)

- **Procedimentos cirúrgicos**

Em situações em que se impõe a realização de procedimentos cirúrgicos em doentes hemofílicos, deverá ser feita a reposição do fator de coagulação em falta, com ou sem outros agentes de terapêutica hemostática, de forma a serem atingidos níveis apropriados para o procedimento, em que deverão ser tidas em conta as recomendações internacionais.(11)

Terapêutica Profilática

Além da profilaxia farmacológica, a prevenção da hemorragia pode ser conseguida através da prevenção do trauma, nomeadamente através da evicção de determinadas práticas desportivas e do uso de capacetes, e da manutenção de uma boa higiene oral. No que diz respeito à vacinação, os doentes com hemofilia deverão receber todas as vacinas contempladas no PNV, já que a sua resposta imune é semelhante às dos indivíduos não hemofílicos. Será de referir apenas que as vacinas intramusculares deverão, sempre que possível, ser administradas subcutaneamente, prevenindo assim a formação de hematomas, já que não parece haver diferença significativa na sua eficácia.(2, 11)

Em doentes com hemofilia, principalmente de grau severo, o tratamento quando realizado apenas *on demand* leva à ocorrência de hemorragias frequentes, com consequente desenvolvimento de danos articulares, que irão tender para um agravamento progressivo.(4) Desta forma, em doentes com hemofilia severa, estará indicada como terapêutica de primeira linha a realização de tratamento profilático com concentrados de fator de coagulação desde idades muito precoces, para assim reduzir a ocorrência de hemorragias e prevenir os danos articulares.(2, 4, 11, 14, 55, 56)

Fundamentos da administração profilática de fatores de coagulação

Os resultados dos maiores estudos respeitantes ao uso de profilaxia em doentes com hemofilia, essencialmente crianças, demonstraram, com boa evidência, que os doentes submetidos a tratamento profilático têm, de facto, menos hemorragias, e mantêm uma melhor função articular do que os que são tratados apenas *on demand*.(4, 14, 21, 57)

Isto irá resultar em necessidades reduzidas de hospitalização, menos absentismo escolar e profissional,(58) melhores resultados escolares e menor número de intervenções cirúrgicas ortopédicas,(2) permitindo também um melhor desenvolvimento psicossocial na medida em que a criança não irá crescer sob o receio constante de desenvolver hemorragias, nem sob a superproteção dos pais.(4, 58)

Com este objetivo, foram elaborados vários regimes profiláticos, com diferentes doses e frequências de administração do fator de coagulação. O regime profilático com dose completa, muitas vezes referido como o regime Malmö, consiste na administração de 25 a 40 U/kg de FVIII em pelo menos 3 dias da semana na Hemofilia A, ou a mesma dose de FIX, 2 vezes por semana, na Hemofilia B.(11, 58)

No entanto, tornou-se também óbvio que estes regimes profiláticos estavam associados a duas grandes contrariedades: a necessidade de se obter um acesso venoso e o seu custo elevado.(4, 59, 60) Devido às administrações repetidas de fator de coagulação, a grande maioria dos doentes sob profilaxia com um regime de dose completa necessitam de um cateter venoso central,(1, 58) que pode complicar com infeção, trombose, hemorragia, sépsis e/ou hospitalização,(61, 62) mais comuns em doentes com inibidores ou infetados pelo HIV.(62) Em relação aos custos, estes são significativamente mais elevados na terapêutica profilática, sendo que, em crianças pequenas, o regime de dose completa tem um custo até três vezes mais elevado que o tratamento *on demand*, podendo mesmo chegar aos 300 000\$.(4, 21) Esta diferença deve-se não só à maior quantidade de concentrados que é necessária, mas também às complicações decorrentes da colocação de um cateter venoso central.(4, 14, 59) Contudo, os regimes profiláticos acabam por ter uma boa relação custo-efetividade a longo-prazo, já que existe uma melhoria na qualidade de vida dos doentes e é eliminado o custo associado ao tratamento das articulações lesadas.(11)

Com vista a diminuir a quantidade de concentrado a administrar, foram também propostos regimes de dose intermédia, com a administração de 15 a 25 U/kg duas a três vezes por semana.(2, 63) Foi já demonstrado que, embora associados a uma maior frequência de hemartrose em comparação com os regimes de dose completa, os regimes de dose intermédia não mostraram diferença significativa no desenvolvimento de artropatia a longo prazo, estando ainda associados a uma diminuição considerável do seu custo,(63) o que os torna especialmente relevantes em países com poucos recursos, nos quais é impossível sustentar financeiramente regimes de dose completa.(11)

Ainda neste contexto, e com o objetivo de diminuir a frequência das administrações, considera-se atualmente a hipótese de ser realizada profilaxia com uma única infusão semanal de 50 U/kg de rFVIII, especialmente em crianças pequenas. Se tal não for suficiente para controlar as manifestações hemorrágicas, a terapêutica deve ser escalada para 30 U/kg administradas duas vezes por semana, ou, por fim, 25 U/kg em dias alternados. Esta metodologia resulta numa necessidade de quantidades menores de concentrado de fator, o que se traduz num custo consideravelmente menor, bem como numa menor necessidade de se recorrer à colocação de um cateter venoso central.(4, 11, 59) Contudo, a frequência de episódios hemorrágicos seja superior à que ocorre com o regime de dose completa.(11, 59)

Atendendo a todas as vantagens que a profilaxia apresenta, as organizações nacionais e internacionais consideram a profilaxia primária como o *standard care* das crianças com hemofilia severa,(11, 26, 56) devendo esta ser mantida a vida toda, ou, pelo menos, até aos 20 anos de idade.(64) Contudo, o regime escolhido varia consoante os centros e os diferentes países(11), sendo que as indicações atuais apontam para um protocolo tão individualizado quanto possível,(4) baseado na idade, acessos venosos, fenótipo hemorrágico, atividade e disponibilidade dos concentrados de fator.(2)

No que respeita à prática destas indicações, apesar de nem todas as crianças hemofílicas na Europa e América do Norte se encontrem sob regimes profiláticos, a maioria faz de facto algum regime de profilaxia.(61) Nestes países, os doentes hemofílicos têm acesso ao melhor tratamento de que dispomos atualmente.(4) No entanto, existem países emergentes com grande densidade populacional, como a Índia e a China, nos quais o tratamento da hemofilia não é minimamente satisfatório, assim como outros países da América do Sul e Europa de Leste que só agora começam a apostar nos programas de cuidados de saúde para doentes com hemofilia.(1) Esta informação torna-se especialmente importante, na medida em que, nestes países, estão contemplados cerca de dois terços de todos os doentes com hemofilia.(4)

A profilaxia pode ainda ser considerada como primária ou secundária, ambas com regimes de longa duração (Tabela 10 e Figura 5), sendo que a secundária se refere à administração de concentrados de fator após ter já existido mais do que uma hemorragia articular,(4, 58) e aplica-se principalmente aos adultos da atualidade que não iniciaram um regime de profilaxia primária na infância.(4). Pode ainda fazer-se a prevenção de eventos hemorrágicos através da administração de concentrados de fator de coagulação por períodos de tempo mais curtos, nomeadamente após cirurgias ou HIC (Tabela 10 e Figura 5).(2, 51, 52)

Profilaxia nos adultos

Em relação ao tratamento em adultos, os nossos tempos colocam-nos perante duas questões importantes: se os regimes profiláticos iniciados na infância devem ser mantidos após a adolescência(4, 11) e, por outro lado, se os adultos com hemofilia

severa que nunca fizeram regimes profiláticos devem iniciar um regime de profilaxia secundária, ou seja, após terem já lesões articulares.(1, 4, 14)

No que diz respeito à primeira questão, embora pareça intuitivo manter os regimes profiláticos ao longo da vida, os seus benefícios ainda não foram formalmente estudados, existindo até alguma evidência de que nem todas as crianças a receber profilaxia necessitem de a manter enquanto adultos, nomeadamente aquelas que, embora tenham níveis de fator inferior a 1% (hemofilia severa), apresentam um fenótipo de uma deficiência moderada.(4, 58) Mais ainda, doentes com hemofilia sob profilaxia primária que alteram para terapêutica *on demand* no início da vida adulta parecem manter um número reduzido de hemorragias articulares.(4) Contudo, mais estudos são necessários para avaliar as consequências a longo-prazo e, assim, elaborar conclusões definitivas quanto a esta problemática.(4, 14)

Em relação à segunda questão, existe cada vez maior evidência dos benefícios decorrentes da instituição de regimes de profilaxia secundária em adolescentes e adultos,(14) já que está associada a uma frequência de hemorragias significativamente menor. Desta forma, consegue-se uma diminuição da dor e uma melhoria da função física e, conseqüentemente, uma melhoria na qualidade de vida,(4, 11, 56, 65) parecendo também existir uma menor progressão da artropatia já estabelecida.(11, 66) Mais ainda, a manutenção ou instituição da terapêutica profilática na idade adulta parece diminuir em 50% o risco de hemorragia intracraniana em doentes sem inibidores.(67)

Neste contexto, foi já proposto o termo profilaxia terciária para definir um regime de profilaxia iniciado após os 18 anos, quando já existe artropatia, que tem por

objetivo diminuir a frequência das hemorragias e, assim, prevenir a progressão das lesões já instaladas.(56)

A questão da administração de regimes profiláticos em adultos tem o seu maior entrave no custo que lhe está associado.(2, 14, 56) No entanto, este custo poderá ser diminuído com a administração de doses menores,(2, 14) já que a semivida do FVIII aumenta com a idade,(14) e adaptadas ao doente e às suas características, nomeadamente farmacocinéticas, de atividade física e de lesão articular.(2, 14)

Hemofilia Leve e Moderada

Em doentes com hemofilia leve e moderada, o objetivo terapêutico consiste na obtenção de uma hemostase adequada em situações de hemorragia traumática e prevenção da hemorragia associada a intervenções cirúrgicas ou outros procedimentos invasivos.(14)

Apesar de os tratamentos adjuvantes terem aqui a sua principal indicação, especialmente nos casos de hemofilia leve (em que a DDAVP constitui a primeira opção terapêutica (26)), a administração de fatores de coagulação é usada na maioria dos doentes com hemofilia moderada (14), mais frequentemente *on demand*.(15, 26) Em aproximadamente 20 a 30% destes doentes, pode ser necessária a realização de terapêutica profilática durante determinados períodos de tempo para controlar a sintomatologia hemorrágica(14) ou mesmo a instituição de terapêutica profilática precocemente. Esta abordagem será especialmente importante em doentes com fenótipo muito semelhante ao tipo severo e tem como finalidade prevenir o desenvolvimento de artropatia. Este procedimento é especialmente importante em doentes com níveis de

fator inferior a 3U/dL, que sofreram a sua primeira hemartrose antes dos 5 anos de idade.(15)

Complicações do tratamento

As complicações imunes são, atualmente, as mais frequentes e preocupantes complicações do tratamento da hemofilia, apesar de, ainda hoje, a infecção por VIH e VHC estar presente em muitos doentes hemofílicos, especialmente nos que foram tratados com derivados de sangue durante a década de 80.(2)

Enquanto a infecção pelo VIH quando tratada com TARV está associada a uma considerável melhoria na esperança média de vida, a infecção pelo VHC continua associada a uma grande taxa de evolução para hepatopatia crónica, com todas as complicações que lhe estão associadas, nomeadamente o carcinoma hepatocelular. (2, 11)

Resposta Imune ao FVIII e FIX exógenos

As reações adversas do tipo imunológico resultam da presença de epítomos estranhos ao organismo no fator infundido, embora nem todos os doentes desenvolvam respostas imunes, ainda por razões desconhecidas.(2)

Estas respostas imunes podem acontecer na forma de reações anafiláticas ou de produção de anticorpos, sendo que os anticorpos podem ser inibidores (inibem a função do fator infundido),(47, 68, 69) não-neutralizantes (não interferem com a atividade do fator na coagulação) ou catalíticos (hidrolisam diretamente a proteína alvo). A distinção entre os anticorpos inibidores e não-neutralizantes está relacionada com o local na proteína onde se localiza o epítomo “alvo” do anticorpo. No caso da hemofilia A, estes epítomos estão mais frequentemente localizados nos domínios A2 e C2,(47, 68, 69) mas também nos A3 e C1(68, 69).

A. Reações anafiláticas

As reações anafiláticas à administração de FVIII, embora relatadas, são raras, ao contrário do que acontece com a infusão de FIX, que leva à ocorrência de reações anafiláticas em 3% dos doentes com hemofilia B. Nos dois casos, as reações aparecem com frequência semelhante com a administração de concentrados de fator recombinante ou derivados de plasma.(11, 70)

O número médio de dias de exposição ao FIX até que a reação anafilática ocorra é de 11 (71, 72) e são considerados como fatores de risco a raça hispânica, antecedentes pessoais e familiares de outras alergias, e hemofilia severa. Parece também haver um predomínio em doentes com deleções ou mutações *nonsense* de *F9*,(70, 71, 73) devido à ausência total de material antigénico em circulação. Por este motivo, a deleção completa de *F9* é considerada um fator de risco *major* para o desenvolvimento de reações anafiláticas (risco de 26%), pelo que poderá estar indicada a genotipagem dos doentes com hemofilia B, para assim se antecipar quais os doentes que poderão estar em maior risco.(73)

O tratamento agudo da anafilaxia consiste em tratamento de suporte e administração de agentes pró-coagulantes que não contenham FIX ou FVIII e que façam um *bypassing* à reação catalizada por estes fatores, ou seja, usando rFVIIa.(74)

Devido ao *timing* em que estas reações anafiláticas geralmente acontecem, está indicada a administração das primeiras 10 a 20 infusões de FIX em ambientes controlados, especialmente em doentes com mutações de alto risco(11, 70-72, 75) e o tratamento dos episódios hemorrágicos nestes doentes deve ser feito com rFVIIa recombinante.(71, 72, 75, 76)

A longo prazo, poderá ponderar-se a administração repetida de concentrado de FIX com doses crescentes, juntamente com hidrocortisona, de forma a promover a dessensibilização, especialmente em doentes com hemofilia B.(76) Se for posta em prática esta tentativa de dessensibilização, terá que ser avaliada frequentemente a existência de proteinúria, já que existe o risco de o doente desenvolver síndrome nefrótico.(71, 72, 75, 76)

B. Desenvolvimento de inibidores

O desenvolvimento de inibidores constitui, atualmente, a mais importante complicação do tratamento da hemofilia,(1, 4, 11, 13, 46, 47, 68) estando presente em 5 a 7% de todos os doentes com hemofilia.(48) Está associado a uma maior morbimortalidade,(1, 4) um aumento do custo da terapêutica(4) e a regimes de tratamento mais complicados.(2)

Os anticorpos inibidores presentes em doentes com hemofilia são particularmente frequentes em doentes com fenótipos severos da doença,(11, 13, 69) tendo também uma maior incidência na hemofilia A (20 a 33 %) relativamente à hemofilia B (1 a 6%),(11, 74) não só porque existem menos doentes com hemofilia B severa, mas também porque, dentro destes, existe uma menor percentagem de mutações nulas (< 20% na hemofilia B e 70% na hemofilia A). Além disso, o próprio FIX parece ter uma maior proteção contra a formação de inibidores, provavelmente devido à sua semelhança a outros fatores de coagulação dependentes de vitamina K.(68) Assim sendo, a grande maioria da informação existente neste contexto refere-se aos inibidores do FVIII.

Embora não se conheça o motivo, nem todos os doentes com hemofilia tratados com concentrados de fator desenvolvem inibidores. Isto poderá, pelo menos em parte, estar associado a fatores de risco como deleções de *F8* ou *F9* ou outras mutações que

resultem numa ausência total de formação de FVIII(13, 68) ou FIX, sendo que, nestes doentes, a probabilidade de desenvolverem inibidores é de 21 a 88% e 6 a 60%, respetivamente.(68) Doentes com mutações que apenas alterem a função do fator, sem que este esteja ausente do plasma do doente, possuem uma probabilidade de desenvolverem inibidores significativamente mais baixa(13, 68) (inferior a 10%).(68) Estes dados levam a comunidade científica a considerar que o tipo de mutação presente num doente com hemofilia é o principal fator de risco para desenvolvimento de inibidores.(13)

A Tabela 11 contempla os restantes fatores mais frequentemente associados a um aumento do risco de desenvolvimento de inibidores em doentes com hemofilia.(4, 13, 47, 48, 77)

Tabela 11 – Fatores que influenciam o desenvolvimento e deteção de inibidores

Relacionados com o doente	Gravidade da hemofilia
	Tipo de mutação genética responsável pela hemofilia
	Raça, Etnia
	Antecedentes familiares de inibidores
	Genótipo HLA
	Idade e idade do primeiro tratamento
Relacionados com a Terapia	Transfusão sanguínea previamente à administração de fator
	Ativação do sistema imune (p.ex. infeções e imunizações)
	Tipo de concentrado de FVIII
	Outra medicação (p.ex. interferão)
Relacionados com o teste de deteção de inibidores	Método, sensibilidade e especificidade do teste para deteção de inibidores
	Frequência da realização do teste de inibidores
	Definição de alto-responder, baixo responder e inibidores transitório
	Presença de auto-anticopos ou anticorpo-antifosfolípideo

(Adaptado de Wight J. and Paisley S., 2003)(48)

Contrariamente à preocupação que surgiu com o aparecimento da terapêutica profilática, tem-se demonstrado que o risco de desenvolvimento de inibidores com a profilaxia regular iniciada em idades precoces é 60 a 70% inferior ao risco associado ao tratamento *on demand*, especialmente quando é iniciada antes da ocorrência de qualquer hemorragia.(4, 77)

A mudança nos produtos usados na terapêutica de substituição não parece aumentar significativamente o risco de desenvolvimento de inibidores.(4, 11, 47) No entanto, quando aplicada, os doentes devem ser avaliados regularmente neste sentido,(11) já que os estudos realizados neste sentido não apresentam as características necessárias para garantir uma boa qualidade dos resultados apresentados.(47)

Em ambos os tipos de hemofilia, os inibidores aparecem geralmente após administrações repetidas de concentrado de fator exógeno e são, mais frequentemente, do isotipo IgG,(8, 11, 69) com uma maior predominância da subclasse IgG4 (8, 47). No caso da hemofilia, a maioria dos inibidores são do tipo I, o que significa que neutralizam completamente o FVIII, sendo eles próprios neutralizados durante a reação.(2)

Em média, os inibidores que se formam após a administração de FVIII recombinante aparecem após 8 a 9 dias de tratamento,(69) mais tipicamente entre os 20 e os 50 dias.(4) No entanto este intervalo de tempo poderá ter uma grande variabilidade. O seu aparecimento manifesta-se pela não paragem de uma hemorragia(69) e/ou um aPTT prologado(11) após a administração da dose habitual de fator de coagulação,(11, 69) estando, nestas situações, indicada a medição dos níveis do fator de coagulação e, se os níveis forem inferiores ao expectável, deve ser realizado um teste de inibidores.(11) O risco de o doente desenvolver inibidores diminui com o aumento do número de dias

de tratamento, sendo muito pouco comum após 200 dias de exposição ao fator exógeno.(74)

Atendendo a estes dados, as atuais *guidelines* recomendam o rastreio diário da presença de inibidores nos doentes hemofílicos previamente não tratados, entre o quinto e o vigésimo dia de tratamento, uma vez a cada 10 dias entre o 21º e o 50º dias de exposição e, depois, pelo menos, duas vezes por ano até aos 150 dias de exposição.(11) Este teste deverá ser repetido sempre que se proceda a um procedimento invasivo ou a uma cirurgia eletiva,(2, 11) já que a presença de inibidores irá alterar a atividade do fator e, portanto, as doses que é necessário administrar.(2)

A deteção e medição dos níveis titulados de inibidores faz-se pelo teste de Bethesda e os níveis titulados de inibidores são expressos em unidades de Bethesda (BU),(74) em que 1 BU representa a quantidade de anticorpos que é necessária para uma diminuição de 50% no nível de atividade de um determinado fator.(69) Para níveis titulados baixos, a modificação de Nijmegen do teste de Bethesda apresenta uma maior sensibilidade e especificidade,(2, 11, 74) motivo pelo qual é o teste mais indicado para a quantificação de inibidores.(11, 47, 74)

Concluindo, os doentes podem ser divididos em duas classes com implicações clínicas diferentes, consoante o seu título de inibidor, em que podem existir títulos baixos (<5 BU) ou títulos altos (>5 BU), (2, 11, 47, 69), ou consoante o tipo de resposta anamnésica, em que os doentes podem ser baixos respondedores, quando os níveis titulados permanecem baixos apesar da exposição repetida ao FVIII exógeno, ou altos respondedores, quando o título de inibidor aumenta rapidamente após a exposição a FVIII exógeno.(2, 11, 69, 74)

O tratamento dos doentes hemofílicos com inibidores, na presença de uma hemorragia ativa, irá depender não só do tipo de hemorragia, como do título do inibidores e o tipo de resposta anamnésica.(2, 26) Assim sendo, na Tabela 12 encontra-se um resumo das diferentes modalidades em função das diferentes situações que poderão ser encontradas.(4, 11, 26, 69)

Tabela 12 – Tratamento de doentes hemofílicos com inibidores(26)

Baixo respondedor (Títulos baixos (< 5 BU) e baixa resposta)	- Doses mais elevadas do factor em causa
Alto respondedor (Títulos altos (>5 BU) e alta resposta)	- Agentes bypass (CCPa e rFVIIa)
Títulos baixos (< 5 BU) e alta resposta	- Doses elevadas do factor em défice até ao desenvolvimento de uma resposta anamnésica (3-5 dias) - Rigorosa monitorização clínica e laboratorial
Pré ITI	-rFVIIa
Reacção alérgica ao FIX	- rFVIIa

Com o objetivo de eliminar os inibidores nos doentes com hemofilia, deve proceder-se à ITI.(1, 11) Esta abordagem está especialmente indicada em crianças com hemofilia A e aparecimento recente de títulos elevados de inibidores. Neste caso, a ITI deve ser iniciada sempre que se confirme a presença de inibidores(4) e logo que o seu título seja inferior a 10 BU,(26) já que este parece ser um fator indicador de sucesso.(4)

Embora esta tolerância imunológica tenha sido conseguida inicialmente através da administração de altas doses de FVIII, mais tarde foi demonstrado que é também possível eliminar os inibidores presentes num determinado doente com a administração repetida de doses mais baixas de concentrado.(69) Atualmente, não existem ainda certezas sobre qual a dose ótima a ser administrada com este intuito, se é benéfico o uso concomitante de agentes imunossuppressores/imunomoduladores(2, 4, 11) e qual o tipo

de terapia de substituição que deve ser instituída (concentrados derivados de plasma ou recombinantes).(2)

Relativamente à dose, tem-se obtido taxas de sucesso semelhantes com altas doses e baixas doses; no entanto, obtêm-se resultados mais rápidos com terapêuticas de altas doses, sendo que, quando administrada terapia de ITI com concentrados em baixas dose existe uma ocorrência significativamente maior de eventos hemorrágicos.(78) Em alguns centros, é também administrada prednisona ou outro corticosteroide em situações em que a descida do título de inibidores é lenta.(69)

No entanto, nem todos os doentes respondem à ITI, o que está dependente de diversos fatores, que poderão estar associados a resultados favoráveis ou desfavoráveis, encontrando-se resumidos na Tabela 13.(46)

Tabela 13 – Fatores com implicações no sucesso da ITI nos doentes com hemofilia

Fatores de bom prognóstico	Fatores de mau prognóstico
Títulos máximos de inibidores <200 BU	Títulos máximos de inibidores ≥200 BU
Títulos de inibidores no início do seu desenvolvimento < 10 BU	Títulos de inibidores no início do seu desenvolvimento ≥10 BU
Inibidores presentes há menos de 2 anos	Inibidores presentes há mais de 2 anos
Idade em que surgiram os inibidores < 8 anos	Idade em que surgiram os inibidores ≥8 anos

(Adaptado de Peyvandi F. *et al.*, 2012)(46)

Na ausência de resposta ou na presença de vários fatores de mau prognóstico, pode estar indicada a administração de concentrado de FVIII rico em FvW.(26, 79) No mesmo contexto, tem sido tentado o tratamento com Rituximab, com ou sem a administração de FVIII, obtendo-se sucesso em alguns casos,(80, 81) embora os resultados a longo prazo pareçam pouco promissores.(46)

Alguns inibidores podem ser apenas transitórios e desaparecer espontaneamente, sem que tenha sido realizado tratamento específico,(2, 11, 74) e apesar da manutenção

do tratamento *on demand*.(4) Isto acontece geralmente com inibidores de baixo título (<5 BU),(2, 11) podendo, no entanto, ocorrer também com altos títulos de inibidores (≤ 10 BU).(2)

No que diz respeito à hemofilia B, o processo de desenvolvimento de inibidores é semelhante ao da hemofilia A; no entanto, além das diferenças já apresentadas, existe ainda um maior risco de os doentes desenvolverem síndrome nefrótica após a administração de FIX e as taxas de sucesso da ITI são consideravelmente mais baixas.(11, 68, 74)

Em relação ao tratamento de eventos hemorrágicos em doentes com hemofilia B e inibidores, a grande diferença passa pela preferência em administrar rFVIIa(71, 72) e não CCPa, já que estes têm também na sua composição FIX.(11, 72) O tratamento do síndrome nefrótico associado à presença de inibidores do FIX não responde ao tratamento com corticosteroides e ciclofosfamida,(72) pelo que, se esta situação evoluir para nefrose, o tratamento com FIX deve ser descontinuado, administrando-se apenas terapia com rFVIIa.(82)

Como possível alternativa no futuro, os doentes poderão receber FVIII de origem suína, já testado na fase II em doentes com hemofilia A e inibidores, tendo sido eficaz no controlo da hemorragia e bem tolerado.(1)

Terapia Génica

A terapia génica constitui a única possibilidade de tratar a longo-prazo doenças congénitas. A hemofilia apresenta-se como uma das patologias com maior potencial neste campo devido ao facto de ser uma doença monogénica, na qual uma pequena elevação nos níveis do fator em falta (para 2 a 5%) é suficiente para controlar as suas mais graves complicações.(4, 13) Para isso, é necessário que se consiga uma transferência do gene com sucesso, ou seja, que se consiga uma expressão persistente de níveis terapêutico de FVIII e FIX sem que o vetor cause toxicidade significativa e sem que exista resposta imunológica ao FVIII/FIX formado.(12)

No que diz respeito à transferência génica, foram já tentadas transferências *ex vivo* em humanos. Contudo, tanto para o FVIII como para o FIX, os resultados não foram satisfatórios, já que, na maioria dos doentes, não houve um aumento significativo nos níveis de fator.(12, 13) Nos que conseguiram níveis superiores a 1%, estes mantiveram-se apenas durante umas semanas, até voltarem aos seus níveis basais.(12) Mais recentemente, têm sido feitos estudos em ratos usando vectores retrovirais para transferir o transgene para as suas células estaminais hematopoiéticas, cujos resultados parecem promissores, estando ainda a decorrer testes em modelos animais de maior tamanho.(12)

Em relação à transferência génica *in vivo*, embora tenham já sido realizados estudos com vetores de adenovírus e retrovírus/lentivírus(2, 12, 83), apenas os ensaios clínicos que utilizavam como vetor os VAA pareceram ter, de facto, evidência de eficácia terapêutica.(2, 12) Mais ainda, os adenovírus desencadearam respostas inflamatórias com citólise hepática e alterações hematológicas e há evidência de que os retrovírus e lentivírus, ao inserirem o transgene no genoma humano, poderão levar à ativação de

oncogenes ou à inativação de genes supressores tumorais, promovendo o processo de oncogénese.(83)

Os ensaios clínicos utilizando como vetor os VAA conseguiram já atingir o objetivo de aumentar os níveis de FIX por longos períodos de tempo. A administração de VAA8, resultou em níveis de FIX de 2% a 10%(2, 12), com um pico máximo de 12%,(83) durante 5 meses em alguns doentes.(2) No entanto, mais uma limitação surge no uso de vetores VAA: a resposta imune contra o seu capsídeo, que levou ao desenvolvimento de hepatotoxicidade (2, 12) transitória em alguns doentes, com destruição pelas células T dos hepatócitos transfectados.(83) Contudo, este problema poderá ser ultrapassado com a administração transitória de corticóides, sendo também importante referir que nenhum dos doentes contemplados neste ensaio desenvolveu respostas imunes contra o FIX (2, 12) e, até à data, não foram relatados efeitos secundários significativos.(12) De referir ainda que, dois anos após a infusão do VAA, muitos destes doentes não voltaram a precisar de qualquer administração de fator.(12)

Desta forma, os VAA, por reunirem um conjunto de características vantajosas ao processo de transferência génica, descritas na Tabela 14, constituem um dos principais candidatos a vetor na terapia génica da hemofilia.(2, 8, 13, 83) A principal limitação dos VAA é a sua capacidade para comportar genes de maiores dimensões, cujo tamanho não poderá ser superior a 4,7 kb,(83) o que, embora não constitua um problema para o FIX (com um ADNc de aproximadamente 1,4 kb)(2, 12), torna difícil comportar até o FVIII sem o seu domínio B (com um ADNc com aproximadamente 4,4 kb). Esta abordagem foi já tentada e baseia-se no facto de o domínio B parecer ser dispensável para a atividade coagulante do FVIII. Os resultados, embora ainda não satisfatórios, tornam esta hipótese uma possibilidade em aberto.(12, 83)

Tabela 14 – Características do VAA

- O VAA é um vírus não patogénico.
- O VAA raramente integra o genoma do hospedeiro.
- Não existem efeitos secundários imediatos à administração de VAA.
- A reatividade imune ao VAA é mínima.
- A readministração do vetor pode ser conseguida com diferentes serotipos do vetor (diferentes capsídeos).

(Adaptado de Hoffman R. *et al.*, 2012)(2)

Existem ainda vetores não virais, no entanto estes apresentam uma menor eficácia, o que leva a que sejam preteridos.(83)

Como perspetiva futura, prevê-se a realização de estudos clínicos com transgenes que contenham uma mutação do FIX descoberta numa família em Itália, conhecida como o FIX de Pádua. A presença desta mutação está associada não só a níveis mais altos de FIX (níveis de 250 a 800%), como a uma atividade 5 a 8 vezes superior à do FIX considerado normal.(12) Estudos pré-clínicos com vetores VAA e FIX de Pádua realizados em cães demonstraram que não só se consegue uma atividade superior do FIX, como não foram demonstradas quaisquer reações imunológicas adicionais às já relatadas para a utilização de vetores VAA.(84) Um dos grupos que se dedicou ao estudo desta hipótese, desenvolveu também um método que permite separar VAA's funcionais daqueles que não contém o transgene, permitindo assim purificar a amostra a ser injetada e, conseqüentemente, diminuir o número de partículas virais. Este procedimento poderá minimizar a resposta imune que, até agora, se pensa estar associada a doses superiores a 10^{12} .(12)

Tem-se ainda também explorado a indução da expressão de FVIII e FIX em megacariócitos/plaquetas ou nas células endoteliais, de forma a restaurar a hemostase ao nível dos locais lesados, possibilitando a sua eficácia mesmo na presença de inibidores.(1, 13, 83).

Em relação às plaquetas, a utilização desta metodologia para a expressão de FIX apresenta uma menor resistência aos inibidores do que o FVIII, provavelmente devido à sua ligação ao FvW.(83) Uma das possíveis formas de conseguir a expressão de FVIII nas plaquetas consiste na inserção do transgene em células estaminais hematopoiéticas, o que se traduz num transplante autólogo de medula óssea.(83) No entanto, apesar de já ter sido conseguido em modelos animais,(12, 83) ainda não se sabe se os doentes com hemofilia irão aceitar a realização de um transplante de medula óssea,(12) ou se esta é uma opção viável para doentes com hemofilia, já que o transplante implica que o doente seja submetido a um regime de condicionamento, o que está associado a importantes efeitos secundários.(83)

Ainda como perspetiva futura, tem sido sugerida a utilização do FVIIa como transgene, em substituição do FVIII, já que, atendendo aos resultados da utilização de rFVIIa como agente de *bypass*, parece não estar associado ao desenvolvimento de inibidores e, por outro lado, conseguiria obter níveis satisfatórios de hemostase, mesmo na presença de inibidores contra o FVIII.(13)

Acompanhamento/Seguimento

Os doentes com hemofilia devem ser submetidos a avaliações estandardizadas com periodicidade anual, ou semestral nas crianças, por todos os membros de uma equipa multidisciplinar, permitindo a identificação de potenciais problemas em fases precoces.(11)

Como será evidente, fármacos que potenciem o risco hemorrágico deverão ser evitados, como é o caso dos AINE's como o ácido acetilsalicílico, sendo que os inibidores da COX-2 estão associados a uma menor disfunção plaquetar. Em situações em que é necessária analgesia, deverá ser dada preferência ao Paracetamol.(11)

Doentes com hemofilia e idades mais avançadas poderão ter indicação para a toma de ácido acetilsalicílico, outros antiagregantes plaquetares ou mesmo anticoagulantes, contudo, a sua prescrição deverá ser feita por uma equipa composta por um cardiologista e um hematologista.(2)

HEMOFILIA A ADQUIRIDA (HAA)

A HAA é uma patologia pouco frequente, com uma incidência de 0,2 a 1 caso por milhão por ano, mas potencialmente perigosa, com uma mortalidade de 7,9 a 22%.(85)

A sua idade de aparecimento é muito variável, com dois picos de incidência: um pequeno entre os 20 e os 30 anos (provocado pelos inibidores decorrentes do pós-parto, que correspondem a 10% do total de casos) e um maior aos 68 a 80 anos. Afeta os dois sexos de igual forma, no entanto, devido à sua associação à gravidez, os indivíduos com HAA em idades mais jovens são, geralmente, mulheres. Consiste também numa diminuição dos níveis de FVIII, com consequente diátese hemorrágica. Contudo, a sua fisiopatologia, apresentação clínica, diagnóstico e tratamento apresentam consideráveis diferenças em relação à hemofilia A congénita.(85)

Fisiopatologia

A diminuição dos níveis de FVIII deve-se ao aparecimento de autoanticorpos num doente geralmente sem antecedentes de pessoais ou familiares de episódios hemorrágicos.(85, 86)

Estes autoanticorpos apresentam características diferentes dos aloanticorpos que surgem nos doentes com hemofilia A tratados com concentrados de FVIII, nomeadamente no que diz respeito à sua classe, já que os autoanticorpos anti-FVIII são predominantemente IgA ou IgM, e atuam contra epítomos localizados principalmente no domínio C2 e, menos frequentemente, A2 e A3.(85)

Uma outra diferença, consiste na sua forma de inativação do FVIII que, na HAA, é predominantemente do tipo II, o que significa que a atividade do FVIII não é

completamente inativada pelo anticorpo, podendo detetar-se, assim, algum FVIII residual no plasma.(85) Este é um dado importante na medida em que o teste de Bethesda, sendo realizado *in vitro*, possa subestimar a potência dos inibidores *in vivo*, raramente existindo correlação entre o fenótipo e o resultado dos testes laboratoriais, o que dificulta a monitorização e escolhas terapêuticas. (85, 86)

Tabela 15 – Estados Clínicos Associados à HAA

Estados Clínicos	
Idiopática	Infeção aguda por HBV e HCV
Gravidez	Neoplasias
Distúrbios auto-ímmunes	A. Sólidas
LES	Próstata
Artrite Reumatóide	Pulmão
Esclerose Múltipla	Colón
Arterite Temporal	Pâncreas
Síndrome de Sjögren	Estômago
Anemia hemolítica auto-ímmune	Vias Biliares
Síndrome de Goodpasture	Cabeça
Miastenia Gravis	Pescoço
Doença de Graves	Colo do útero
Hipotiroidismo auto-ímmune	Mama
	Melanoma
Doença Inflamatória Intestinal	Rim
Colite Ulcerosa	B. Hematológicas
Reações alérgicas medicamentosas	Leucemia Linfocítica Crónica
Penicilina e seus derivados	Linfoma Não-Hodgkin
Sulfamidas	Mieloma Múltiplo
Fenitoína	Macroglobulinémia de Waldenström
Cloranfenicol	Síndrome Mielodisplásico
Metildopa	Mielofibrose
Tioxanteno Depot	Eritroleucemia
Interferão- α	
Fludarabina	Diabetes
Vacina BCG	
Doenças Respiratórias	Doenças dermatológicas
Asma	Psoríase
DPOC	Pênfigo

(Adaptado de Franchini, M. *et al.*, 2005)(85)

Em cerca de 50% dos casos está associada a determinados estados clínicos (Tabela 15), entre os quais a gravidez (10% dos casos), mas também doenças auto-imunes, doenças respiratórias, reações alérgicas, fármacos, diabetes, hepatite B ou C agudas e neoplasias malignas sólidas ou hematológicas (aproximadamente 10 % dos casos). (85, 86)

Apresentação Clínica

As suas manifestações têm também um carácter hemorrágico, no entanto diferem da hemofilia congénita pela sua propensão para a ocorrência de equimoses, epistaxis, hemorragias gastrintestinais, urológicas, musculares e dos tecidos moles, hemorragia prolongada após o trauma ou procedimentos cirúrgicos e hematomas retroperitoneais, sendo as hemartroses uma manifestação pouco usual. (85, 86)

Estas hemorragias estão frequentemente associadas a situações que colocam em risco a vida do doente, como nos hematomas retroperitoneais rapidamente progressivos e nas síndromes compartimentais causadas por hemorragias musculares. Como é característico deste tipo de alterações da coagulação, também se pode observar hemorragia excessiva na sequência de traumas ou no pós-parto, e HIC.(85, 86)

Diagnóstico

Qualquer doente, especialmente se idoso ou no pós-parto, se se apresentar com um evento hemorrágico de início recente ou agudo, acompanhado de um aPTT inexplicadamente prolongado, deve ser investigado, colocando-se a hipótese de HAA.(86)

O seu diagnóstico inicia-se então com um aumento do aPTT, que não é corrigido com a mistura do plasma de um indivíduo com plasma normal, associado a uma diminuição dos níveis de FVIII e evidência da presença de um inibidor do FVIII num doente sem antecedentes pessoais ou familiares de manifestações hemorrágicas.(85) De referir que deverão também ser doseados os FIX, FXI e FXII, sendo que um resultado sugestivo de HAA consiste numa diminuição isolada do FVIII.(86)

Por fim, os títulos de inibidor deverão ser medidos pelo teste de Bethesda, no entanto, devido ao facto de estes inibidores terem uma cinética do tipo II, os resultados são menos fiáveis do que nos aloanticorpos. Da mesma forma, dever-se-á proceder à medição dos inibidores do FVIII suíno, com o objetivo de se conhecer o seu potencial terapêutico.(86)

Tratamento

O tratamento depende da presença ou não de condições patológicas associadas. Na HAA associada a gravidez e a fármacos, os inibidores terão tendência a desaparecer alguns meses após o parto ou a suspensão do fármaco. Nos casos em que os inibidores não desaparecerem após o parto, o seu aparecimento poderá ser a primeira manifestação de uma doença auto-imune, motivo pelo qual estas doentes devem ser vigiadas.(85)

Nas restantes condições, a cura da doença, se possível, em associação com o tratamento adequado, levam também ao desaparecimento dos inibidores. Nos casos associados à presença de doenças auto-imunes, a resolução espontânea deste quadro é muito rara.(85)

Nos 50% de casos de etiologia idiopática, o tratamento passa apenas pelo controle dos episódios hemorrágicos e pela erradicação dos autoanticorpos, de acordo com o descrito na Tabela 15.(85)

Tabela 15 – Tratamento da HAA

Tratamento dos episódios hemorrágicos	Títulos de inibidores < 5 BU/mL	Concentrados FVIII humanos
		Desmopressina
	Títulos de inibidores > 5 BU/mL	Concentrados de FVIII suíno
APCC		
rFVIIa		
Redução temporária do título de inibidores	Remoção extracorpórea dos inibidores	Plasmaferese
		Imunoadsorção de imunoglobulinas
Erradicação dos inibidores	Imunossuppressores	Corticosteróides
		Ciclofosfamida
		Azatioprina
		6-Mercaptopurina
		Vincristina
	Terapêutica de 2ª linha	Imunoglobulinas em alta-dose
		Ciclosporina
	Outros tratamentos	Interferão- α
Rituximab		
IVI		

(Adaptado de Franchini M. *et al.*, 2005)

Atendendo à elevada taxa de mortalidade associada aos eventos hemorrágicos agudos, a prioridade no tratamento desta patologia será sempre o controle da hemorragia de forma eficaz, especialmente se esta for potencialmente fatal, estando indicada a administração de agentes de *bypass* como primeira linha de tratamento. Assim sendo, os concentrados de FVIII humanos e a desmopressina só devem ser administrados em situações de baixos títulos de inibidores, em hemorragias *minor* e quando não existem agentes de *bypass* disponíveis.(86)

Embora um terço dos doentes tenha resolução espontânea, especialmente nos doentes com baixos títulos,(85, 86) assim que o diagnóstico é confirmado, deve ser feita a erradicação dos inibidores. Pretende-se desta forma diminuir o risco hemorrágico, já que não existe qualquer característica do doente que permita prever a ocorrência de hemorragias *major* potencialmente fatais. Neste contexto, o tratamento com corticosteroides, ou a sua combinação com ciclofosfamida, constituem a primeira opção terapêutica.(86)

De entre as hipóteses terapêuticas listadas, alguns autores consideram o Rituximab como terapêutica de 2ª linha na erradicação dos inibidores, não recomendando a administração de imunoglobulinas em altas doses.(86)

De referir que em relação à ITI, esta processa-se de forma muito semelhante ao já referido para os aloanticorpos,(85, 86) mas só tem indicação na HAA na presença de hemorragias que coloquem em risco a vida do doente, observando-se bons resultados com a combinação de FVIII com ciclofosfamida e metilprednisolona.(86)

Acompanhamento/Seguimento

Os doentes com HAA devem ser seguidos após uma resposta completa e sustida com monitorização mensal do aPTT e da atividade do FVIII durante o primeiro semestre, a cada 2 a 3 meses no segundo semestre, e a cada 6 meses durante o segundo ano.(86)

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os concentrados de fatores da coagulação, derivados do plasma e recombinantes, são eficazes no tratamento e prevenção dos episódios hemorrágicos dos utentes com coagulopatias congénitas. Ambos os produtos são considerados bastante seguros, contudo o risco de potencial transmissão de agentes patogénicos já conhecidos (VHA, parvovírus B19, priões) e de agentes patogénicos emergentes (que possam não ser eliminados pelos métodos existentes de redução e inativação viral) tem levado a um movimento crescente de utilização de produtos recombinantes. Entre estes últimos, tem-se também assistido a uma evolução no sentido de uma cada vez menor utilização de proteínas de origem humana ou animal.(26, 87)

Embora a terapêutica profilática seja considerada *standard of care*, ainda estão por determinar quais os regimes profiláticos mais eficazes e com a melhor relação custo-efetividade.(11, 50, 59) São assim necessários mais estudos que permitam definir regimes profiláticos otimizados para cada indivíduo e que tenham em consideração a idade e atividade física do doente, a gravidade clínica da hemofilia (aproximadamente 10 a 15% dos indivíduos com hemofilia definida laboratorialmente como severa manifestam um fenótipo relativamente moderado) e os recursos disponíveis para a implementação de programas de profilaxia de elevado custo.(50, 58)

Este é um assunto que ganha especial relevo nos países em que a acessibilidade a concentrados de FVIII é limitada, o que implica encontrar um regime que providencie uma profilaxia eficaz, com a administração de quantidades de FVIII reduzidas. Esta questão levou a comunidade científica a ponderar o risco-benefício da administração de fator três vezes por semana, já que esta está associada a uma maior necessidade de colocação de cateteres venosos centrais, com todas as complicações que lhe estão

associadas, e que talvez possa ser evitada com a administração menos frequente de fator.(59)

Mais ainda, apesar de estar recomendada a profilaxia com concentrados de fator administrados três vezes por semana, atualmente cerca de metade dos Centros de Tratamento de Hemofilia nos EUA não cumprem estas *guidelines*, sendo que, aproximadamente um terço inicia a terapêutica profilática com uma administração semanal, de forma a evitar colocação de um cateter venoso central.(61) Atendendo a que o principal objetivo da terapêutica profilática é prevenir lesões articulares e consequente incapacidade física, são necessários mais estudos para determinar os custos e os resultados a longo-prazo, assim como a qualidade de vida da criança e da família com a profilaxia *standard* e os regimes profiláticos de dose escalada.(60)

Em relação a perspetivas futuras, o principal objetivo será corrigir a falta de tratamento adequado que acomete cerca de dois terços da população hemofílica mundial, já que, infelizmente, a evolução e a acessibilidade crescente de produtos não foram acompanhadas de uma diminuição no seu custo.(1, 4) Neste contexto, as perspetivas mais animadoras dizem respeito aos novos concentrados de fator com semividas prolongadas e outras modificações que se encontram atualmente em desenvolvimento ou em fase de ensaios clínicos. Estes novos produtos irão reduzir o impacto de alguns dos principais problemas relacionados com o tratamento da hemofilia, como a necessidade de administrações frequentes e, consequentemente, da colocação de cateteres venosos centrais em crianças, o que irá facilitar a implementação de regimes profiláticos e de ITI. Por outro lado, estes produtos poderão ainda diminuir o risco de desenvolvimento de inibidores. Assim sendo, irá reduzir-se a quantidade de fator necessária e, desta forma, o custo do tratamento.(4) De referir ainda que estes países em desenvolvimento devem optar por estratégias diferentes atendendo aos seus

recursos, sendo que nos países com um rápido desenvolvimento tecnológico será talvez mais apropriado apostar na produção de rFVIII e no desenvolvimento de metodologias de terapia génica, enquanto nos países em que os programas de *health care* direcionados para doentes com hemofilia se encontram a crescer rapidamente, mas que não possuam recursos financeiros para sustentar tratamentos com rFVIII, devem apostar num aumento da produção industrial de produtos derivados de plasma.(1)

No que diz respeito à abordagem terapêutica da hemofilia em adultos e adolescentes, embora o tratamento *on demand* continue a ser uma escolha comum entre estes indivíduos,(59) devem ainda ser realizados estudos que permitam determinar se a terapêutica profilática deve ser descontinuada nestes indivíduos e, caso isso se verifique, qual o momento ótimo para o fazer. Estes estudos devem incluir uma avaliação da qualidade de vida relacionada com a hemofilia e uma avaliação económica, como a análise do custo-efetividade e custo-utilidade.(50, 58)

De referir que realizar estudos cientificamente válidos é particularmente difícil em doenças raras, como a hemofilia, devido a questões logísticas e de recrutamento de indivíduos.(78) Este problema assume ainda maior relevo quando os estudos são direcionados a doentes com hemofilia moderada, o tipo de hemofilia menos prevalente, o que torna extremamente difícil reunir uma amostra representativa da sua heterogeneidade.(15) Assim sendo, para que se continuem a fazer avanços na abordagem terapêutica da hemofilia, tanto na otimização do tratamento com concentrados de fator como no desenvolvimento de novas metodologias, é essencial a colaboração internacional, com estudos a englobar vários centros de tratamento de diferentes países.(1, 50)

Embora seja de extrema importância confirmar se de facto existe uma diferença significativa no desenvolvimento de inibidores entre os concentrados de rFVIII e os concentrados de FVIII derivados de plasma, a única forma de o fazer seria através da realização de estudos que implicassem a administração de apenas um ou outro produto a diferentes grupos de indivíduos definidos aleatoriamente. No entanto, dificilmente um estudo destes poderá ser realizado já que, devido ao flagelo da transmissão de doenças infecciosas nos anos 80 e à potencial transmissão da doença dos priões ou outros patogéneos atualmente desconhecidos através de produtos derivados de plasma, tornou-se praticamente inconcebível a administração de produtos derivados de plasma a doentes diagnosticados *de novo* em países desenvolvidos.(48)

Embora pouco prevalente em comparação com outras patologias, como a diabetes e o cancro, a comunidade científica não deve descurar a investigação no campo do tratamento da hemofilia, já que, embora estejam disponíveis opções terapêuticas eficazes, estas condicionam de sobremaneira a qualidade de vida dos doentes. Neste âmbito, a comunidade científica deve direcionar os seus esforços para o desenvolvimento da terapia génica, concentrados de fator que possam ser administrados por via oral, infusões de longa duração, implantes de libertação controlada e outros fármacos que atuem como terapêutica adjuvante de longa duração.(8)

Apesar de tudo, os avanços conseguidos no âmbito da inativação viral de produtos derivados de plasma e no desenvolvimento de produtos recombinantes levou a um aumento progressivo na esperança média de vida que, atualmente, se aproxima daquela esperada para a população em geral. Este facto acrescenta novas complicações no tratamento dos doentes com hemofilia, nomeadamente a presença concomitante de comorbilidades decorrentes do envelhecimento, que até há poucos anos, raramente eram observadas. Por este motivo, a informação respeitante à abordagem terapêutica destes

doentes é ainda escassa, no entanto, estes doentes necessitam de especial atenção clínica, já que possuem um risco hemorrágico ainda maior, devido às lesões orgânicas, intervenções farmacológicas ou procedimentos invasivos muitas vezes associados às patologias cuja prevalência aumenta significativamente com a idade.(50)

Atendendo a que a terapêutica de substituição se apresenta como uma estratégia segura e eficaz na prevenção e redução do impacto da artropatia, a mais grave complicação da hemofilia na atualidade diz respeito ao desenvolvimento de inibidores. O seu aparecimento torna a administração de concentrados ineficaz, impedindo a realização da profilaxia e, conseqüentemente, expondo as crianças a uma maior morbidade e pior qualidade de vida. Mais ainda, a necessidade de serem administradas doses mais elevadas de concentrados de fator aumenta consideravelmente os custos já elevados do tratamento destes doentes. Embora sejam já conhecidos muitos dos fatores de risco associados ao desenvolvimento de inibidores, a única estratégia existente que tem por objetivo a erradicação dos inibidores consiste na ITI. No entanto, várias questões existem ainda por responder, nomeadamente em relação à dose ótima, tipo de concentrado, intervalos de infusão e associação de agentes imunomoduladores. (50)

A HAA é uma patologia rara e ainda não completamente compreendida(85) que, ao contrário da hemofilia congénita, não tem ainda recomendações com evidência de nível 1 no que diz respeito ao tratamento, devido ao pequeno número de novos casos. Assim sendo, a abordagem terapêutica destes doentes é muitas vezes empírica e baseada em dados de estudos retrospectivos. Ocasionalmente, podem ser utilizados os resultados obtidos na hemofilia congénita, com ou sem inibidores, para suportar determinadas decisões terapêuticas. Assim sendo, os médicos que lidem com casos de HAA devem ser encorajados a contribuir com relatos de casos, que permitam aumentar o conjunto de

dados relativos às características clínicas, abordagem e resultados obtidos, que possam servir de base a novas indicações terapêuticas baseadas na evidência. (86)

Atualmente, observam-se inúmeros progressos no entendimento da fisiopatologia da HAA, tendo sido esclarecidos vários mecanismos pelos quais estes anticorpos neutralizam a atividade do FVIII. Como já foi referido, a mortalidade da HAA é elevada, especialmente durante a fase aguda da doença nos doentes com títulos altos de inibidores. No entanto, tem-se observado uma diminuição significativa desta taxa devido à crescente disponibilidade de agentes de *bypass*, como os CCP's e os concentrados de rFVII. Da mesma forma, as recentes estratégias terapêuticas têm vindo a melhorar o prognóstico, apesar de este estar sempre dependente, pelo menos em parte, da causa subjacente.(85)

Por fim, apesar de a hemofilia constituir um distúrbio com grandes avanços na terapêutica e cujos mecanismos fisiopatológicos se encontram já muito bem definidos, o seu tratamento encontra-se ainda longe de ser o ideal. Impõe-se a necessidade de criar regimes individualizados, mais cómodos e menos dispendiosos para os doentes com hemofilia congénita. Mais ainda, deve ser feito um esforço para alertar a comunidade médica para as particularidades do diagnóstico diferencial dos distúrbios hemorrágicos, de forma a evitar atrasos na realização do tratamento adequado, o que pode levar a consequências graves, e mesmo potencialmente fatais.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Ana Bela Sarmiento pela preocupação constante que demonstrou ao longo do último ano relativamente à evolução do nosso trabalho e por todo o esforço que fez para que conseguíssemos cumprir os objetivos a que nos propusemos, mesmo quando isso implicou lidar com uma significativa carga de trabalho extra. Fica ainda um reconhecimento pelo excelente trabalho que tem feito com a cadeira de Hematologia e pela simpatia com que trata todos os que a si recorrem.

Ao Doutor José Pedro Carda, por todo o conhecimento que me tem vindo a transmitir ao longo da minha formação académica, pela sua paciência para com os meus momentos de desânimo e ansiedade que esta tese despertou, pelo tempo que me disponibilizou (quando, na verdade, esse tempo não existia) e pelo bom-humor que faz questão de demonstrar em qualquer contato que estabelece. Por último, um muito obrigado pelo gosto pela Hematologia que em mim conseguiu incutir.

Aos meus pais e irmãzinha, eternos sofredores com os meus dramas de estudante, um agradecimento especial por toda a colaboração, mesmo quando as minhas dúvidas ultrapassavam as suas áreas de conhecimentos.

Ao Pedro e à Ana, verdadeiros colaboradores nesta tese, conselheiros gramaticais, infinitamente disponíveis para qualquer dúvida ou preocupação, muito obrigada pela vossa amizade. Gostaria ainda de deixar um agradecimento especial à Ana por me ter introduzido no mundo do EndNote (que tanto me facilitou esta jornada) e por ter aplicado os seus conhecimentos em teses de mestrado na correção atenta destas 100 páginas. Por fim, à Magali, pelo gosto e boa-vontade com que sempre oferece a sua ajuda e conhecimentos.

REFERÊNCIAS

1. Franchini M, Mannucci PM. Past, present and future of hemophilia: a narrative review. *Orphanet journal of rare diseases*. 2012;7:24. PubMed PMID: 22551339. Pubmed Central PMCID: 3502605.
2. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop H, Weitz J, Anastasi J. *Hematology: Basic Principles and Practice, Expert Consult Premium Edition - Enhanced Online Features: Elsevier Health Sciences; 2012.*
3. National Hemophilia Foundation. *History of Bleeding Disorders* [cited 2014 23/11/2014]. Available from: <https://www.hemophilia.org/Bleeding-Disorders/History-of-Bleeding-Disorders>.
4. Coppola A, Di Capua M, Di Minno MN, Di Palo M, Marrone E, Ierano P, et al. Treatment of hemophilia: a review of current advances and ongoing issues. *Journal of blood medicine*. 2010;1:183-95. PubMed PMID: 22282697. Pubmed Central PMCID: 3262316.
5. Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition: McGraw-Hill Education; 2011.*
6. Hoffbrand V, Moss P. *Essential Haematology, 6th Edition: Wiley; 2011.*
7. Mann KG. Thrombin generation in hemorrhage control and vascular occlusion. *Circulation*. 2011 Jul 12;124(2):225-35. PubMed PMID: 21747067. Pubmed Central PMCID: PMC3138077. Epub 2011/07/13. eng.
8. Sona P.S CML. HEMOPHILIA - AN OVERVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010 November – December 2010;Volume 5(Issue 1):18-26.

9. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001 Aug;12(5):261-73. PubMed PMID: 11487378. Epub 2001/08/07. eng.
10. Triplett DA. Coagulation and bleeding disorders: review and update. *Clinical chemistry*. 2000 Aug;46(8 Pt 2):1260-9. PubMed PMID: 10926920. Epub 2000/08/06. eng.
11. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2013 Jan;19(1):e1-47. PubMed PMID: 22776238. Epub 2012/07/11. eng.
12. Walsh CE, Batt KM. Hemophilia clinical gene therapy: brief review. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2013 Apr;161(4):307-12. PubMed PMID: 23352600.
13. Tantawy AAG. Molecular genetics of hemophilia A: Clinical perspectives. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 2010 11//;11(2):105-14.
14. Josephson N. The hemophilias and their clinical management. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2013;2013:261-7. PubMed PMID: 24319189.
15. den Uijl I, Biesma D, Grobbee D, Fischer K. Outcome in moderate haemophilia. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2014 Jan;12 Suppl 1:s330-6. PubMed PMID: 23245711. Pubmed Central PMCID: PMC3934251. Epub 2012/12/19. eng.
16. Castaldo G, Nardiello P, Bellitti F, Santamaria R, Rocino A, Coppola A, et al. Haemophilia B: from molecular diagnosis to gene therapy. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2003 Apr;41(4):445-51. PubMed PMID: 12747585. Epub 2003/05/16. eng.

17. Ljung R, Petrini P, Nilsson IM. Diagnostic symptoms of severe and moderate haemophilia A and B. A survey of 140 cases. *Acta paediatrica Scandinavica*. 1990 Feb;79(2):196-200. PubMed PMID: 2321482. Epub 1990/02/01. eng.
18. Muca-Perja M, Riva S, Grochowska B, Mangiafico L, Mago D, Gringeri A. Ultrasonography of haemophilic arthropathy. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2012 May;18(3):364-8. PubMed PMID: 21999202.
19. Silva M, Jr. JVL, Llinás A. Chronic Hemophilic Synovitis: The Role of Radiosynovectomy. *WFH*. 2004 APRIL 2004;33(Treatment of Hemophilia). Epub APRIL 2004.
20. Querol F, Rodriguez-Merchan EC. The role of ultrasonography in the diagnosis of the musculo-skeletal problems of haemophilia. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2012 May;18(3):e215-26. PubMed PMID: 22044728. Epub 2011/11/03. eng.
21. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe hemophilia. *The New England journal of medicine*. 2007 Aug 9;357(6):535-44. PubMed PMID: 17687129. Epub 2007/08/10. eng.
22. Kitchen S, Hayward C, Negrier C, Dargaud Y. New developments in laboratory diagnosis and monitoring. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2010 Jul;16 Suppl 5:61-6. PubMed PMID: 20590858. Epub 2010/07/16. eng.
23. Peyvandi F, Kaufman RJ, Seligsohn U, Salomon O, Bolton-Maggs PH, Spreafico M, et al. Rare bleeding disorders. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2006 Jul;12 Suppl 3:137-42. PubMed PMID: 16684009. Epub 2006/05/11. eng.

24. Peyvandi F, Di Michele D, Bolton-Maggs PH, Lee CA, Tripodi A, Srivastava A. Classification of rare bleeding disorders (RBDs) based on the association between coagulant factor activity and clinical bleeding severity. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH. 2012 Sep;10(9):1938-43. PubMed PMID: 22943259. Epub 2012/09/05. eng.
25. James P, Salomon O, Mikovic D, Peyvandi F. Rare bleeding disorders - bleeding assessment tools, laboratory aspects and phenotype and therapy of FXI deficiency. *Haemophilia* : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2014 May;20 Suppl 4:71-5. PubMed PMID: 24762279. Epub 2014/04/26. eng.
26. Seleção e Uso de Produtos Terapêuticos para o Tratamento de Utentes com Coagulopatias Congénitas, (31/07/2014).
27. Fowler WE, Fretto LJ, Hamilton KK, Erickson HP, McKee PA. Substructure of human von Willebrand factor. *The Journal of clinical investigation*. 1985 Oct;76(4):1491-500. PubMed PMID: 2932468. Pubmed Central PMCID: PMC424111. Epub 1985/10/01. eng.
28. Sadler JE, Budde U, Eikenboom JC, Favaloro EJ, Hill FG, Holmberg L, et al. Update on the pathophysiology and classification of von Willebrand disease: a report of the Subcommittee on von Willebrand Factor. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH. 2006 Oct;4(10):2103-14. PubMed PMID: 16889557. Epub 2006/08/08. eng.
29. Wagner DD. Cell biology of von Willebrand factor. *Annual review of cell biology*. 1990;6:217-46. PubMed PMID: 2275814. Epub 1990/01/01. eng.
30. Mannucci PM. Treatment of von Willebrand's Disease. *The New England journal of medicine*. 2004 Aug 12;351(7):683-94. PubMed PMID: 15306670. Epub 2004/08/13. eng.

31. Batlle J, Lopez-Fernandez MF, Lopez-Borrasca A, Lopez-Berges C, Dent JA, Berkowitz SD, et al. Proteolytic degradation of von Willebrand factor after DDAVP administration in normal individuals. *Blood*. 1987 Jul;70(1):173-6. PubMed PMID: 3496131. Epub 1987/07/01. eng.
32. Keeney S, Bowen D, Cumming A, Enayat S, Goodeve A, Hill M. The molecular analysis of von Willebrand disease: a guideline from the UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation Haemophilia Genetics Laboratory Network. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2008 Sep;14(5):1099-111. PubMed PMID: 18637846. Epub 2008/07/22. eng.
33. Federici AB. The factor VIII/von Willebrand factor complex: basic and clinical issues. *Haematologica*. 2003 Jun;88(6):EREPO2. PubMed PMID: 12826528. Epub 2003/06/27. eng.
34. Sadler JE, Mannucci PM, Berntorp E, Bochkov N, Boulyjenkov V, Ginsburg D, et al. Impact, diagnosis and treatment of von Willebrand disease. *Thrombosis and haemostasis*. 2000 Aug;84(2):160-74. PubMed PMID: 10959685. Epub 2000/08/26. eng.
35. Gallinaro L, Cattini MG, Sztukowska M, Padrini R, Sartorello F, Pontara E, et al. A shorter von Willebrand factor survival in O blood group subjects explains how ABO determinants influence plasma von Willebrand factor. *Blood*. 2008 Apr 1;111(7):3540-5. PubMed PMID: 18245665. Epub 2008/02/05. eng.
36. Nichols WL, Hultin MB, James AH, Manco-Johnson MJ, Montgomery RR, Ortel TL, et al. von Willebrand disease (VWD): evidence-based diagnosis and management guidelines, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Expert Panel report (USA). *Haemophilia : the official journal of the World Federation of*

Hemophilia. 2008 Mar;14(2):171-232. PubMed PMID: 18315614. Epub 2008/03/05. eng.

37. Bowen DJ. An influence of ABO blood group on the rate of proteolysis of von Willebrand factor by ADAMTS13. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2003 Jan;1(1):33-40. PubMed PMID: 12871537. Epub 2003/07/23. eng.

38. Gill JC, Endres-Brooks J, Bauer PJ, Marks WJ, Jr., Montgomery RR. The effect of ABO blood group on the diagnosis of von Willebrand disease. *Blood*. 1987 Jun;69(6):1691-5. PubMed PMID: 3495304. Epub 1987/06/01. eng.

39. Campos M, Sun W, Yu F, Barbalic M, Tang W, Chambless LE, et al. Genetic determinants of plasma von Willebrand factor antigen levels: a target gene SNP and haplotype analysis of ARIC cohort. *Blood*. 2011 May 12;117(19):5224-30. PubMed PMID: 21343614. Pubmed Central PMCID: PMC3109544. Epub 2011/02/24. eng.

40. Kadir RA, Economides DL, Sabin CA, Owens D, Lee CA. Variations in coagulation factors in women: effects of age, ethnicity, menstrual cycle and combined oral contraceptive. *Thrombosis and haemostasis*. 1999 Nov;82(5):1456-61. PubMed PMID: 10595638. Epub 1999/12/14. eng.

41. Mancuso DJ, Tuley EA, Westfield LA, Worrall NK, Shelton-Inloes BB, Sorace JM, et al. Structure of the gene for human von Willebrand factor. *The Journal of biological chemistry*. 1989 Nov 25;264(33):19514-27. PubMed PMID: 2584182. Epub 1989/11/25. eng.

42. Bowman M, Hopman WM, Rapson D, Lillicrap D, James P. The prevalence of symptomatic von Willebrand disease in primary care practice. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2010 Jan;8(1):213-6. PubMed PMID: 19874468. Epub 2009/10/31. eng.

43. Bowman M, Hopman WM, Rapson D, Lillicrap D, Silva M, James P. A prospective evaluation of the prevalence of symptomatic von Willebrand disease (VWD) in a pediatric primary care population. *Pediatric blood & cancer*. 2010 Jul 15;55(1):171-3. PubMed PMID: 20213845. Epub 2010/03/10. eng.
44. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. Epidemiological investigation of the prevalence of von Willebrand's disease. *Blood*. 1987 Feb;69(2):454-9. PubMed PMID: 3492222. Epub 1987/02/01. eng.
45. Rodeghiero F, Tosetto A, Abshire T, Arnold DM, Collier B, James P, et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2010 Sep;8(9):2063-5. PubMed PMID: 20626619. Epub 2010/07/16. eng.
46. Peyvandi F, Klamroth R, Carcao M, Federici AB, G DIM, Jimenez-Yuste V, et al. Management of bleeding disorders in adults. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2012 May;18 Suppl 2:24-36. PubMed PMID: 22530576.
47. Iorio A, Puccetti P, Makris M. Clotting factor concentrate switching and inhibitor development in hemophilia A. *Blood*. 2012 Jul 26;120(4):720-7. PubMed PMID: 22692511. Epub 2012/06/14. eng.
48. Wight J, Paisley S. The epidemiology of inhibitors in haemophilia A: a systematic review. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2003 Jul;9(4):418-35. PubMed PMID: 12828678.
49. Gouw SC, van der Bom JG, Ljung R, Escuriola C, Cid AR, Claeysens-Donadel S, et al. Factor VIII products and inhibitor development in severe hemophilia A. *The*

New England journal of medicine. 2013 Jan 17;368(3):231-9. PubMed PMID: 23323899.

50. Coppola A, Morfini M, Cimino E, Tufano A, Cerbone AM, Di Minno G. Current and evolving features in the clinical management of haemophilia. Blood transfusion = Trasfusione del sangue. 2014 Apr;12 Suppl 3:s554-62. PubMed PMID: 24922295. Pubmed Central PMCID: PMC4044810. Epub 2014/06/13. eng.

51. Berntorp E, Astermark J, Bjorkman S, Blanchette VS, Fischer K, Giangrande PL, et al. Consensus perspectives on prophylactic therapy for haemophilia: summary statement. Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2003 May;9 Suppl 1:1-4. PubMed PMID: 12709030. Epub 2003/04/24. eng.

52. Coppola A, Di Capua M, De Simone C. Primary prophylaxis in children with haemophilia. Blood transfusion = Trasfusione del sangue. 2008 Sep;6 Suppl 2:s4-11. PubMed PMID: 19105503. Pubmed Central PMCID: PMC2652217. Epub 2008/12/25. eng.

53. Castaman G. Desmopressin for the treatment of haemophilia. Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2008 Jan;14 Suppl 1:15-20. PubMed PMID: 18173690.

54. Stoof SC, Sanders YV, Petrij F, Cnossen MH, de Maat MP, Leebeek FW, et al. Response to desmopressin is strongly dependent on F8 gene mutation type in mild and moderate haemophilia A. Thrombosis and haemostasis. 2013 Mar;109(3):440-9. PubMed PMID: 23348756.

55. Regular Administration of Clotting Factor Concentrate to Prevent Bleeding, (2007).

56. Gringeri A, Lambert T, Street A, Aledort L. Tertiary prophylaxis in adults: is there a rationale? *Haemophilia* : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2012 Sep;18(5):722-8. PubMed PMID: 22639786. Epub 2012/05/30. eng.
57. Gringeri A, Lundin B, von Mackensen S, Mantovani L, Mannucci PM, Group ES. A randomized clinical trial of prophylaxis in children with hemophilia A (the ESPRIT Study). *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH. 2011 Apr;9(4):700-10. PubMed PMID: 21255253.
58. Blanchette VS, Manco-Johnson M, Santagostino E, Ljung R. Optimizing factor prophylaxis for the haemophilia population: where do we stand? *Haemophilia* : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2004 Oct;10 Suppl 4:97-104. PubMed PMID: 15479380. Epub 2004/10/14. eng.
59. Feldman BM, Pai M, Rivard GE, Israels S, Poon MC, Demers C, et al. Tailored prophylaxis in severe hemophilia A: interim results from the first 5 years of the Canadian Hemophilia Primary Prophylaxis Study. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH. 2006 Jun;4(6):1228-36. PubMed PMID: 16706965. Epub 2006/05/19. eng.
60. Risebrough N, Oh P, Blanchette V, Curtin J, Hitzler J, Feldman BM. Cost-utility analysis of Canadian tailored prophylaxis, primary prophylaxis and on-demand therapy in young children with severe haemophilia A. *Haemophilia* : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 2008 Jul;14(4):743-52. PubMed PMID: 18422610. Epub 2008/04/22. eng.
61. Ragni MV, Fogarty PJ, Josephson NC, Neff AT, Raffini LJ, Kessler CM. Survey of current prophylaxis practices and bleeding characteristics of children with severe haemophilia A in US haemophilia treatment centres. *Haemophilia* : the official journal

of the World Federation of Hemophilia. 2012 Jan;18(1):63-8. PubMed PMID: 21539695.

62. Ljung R. The risk associated with indwelling catheters in children with haemophilia. *British journal of haematology*. 2007 Sep;138(5):580-6. PubMed PMID: 17686052.

63. Fischer K, Astermark J, van der Bom JG, Ljung R, Berntorp E, Grobbee DE, et al. Prophylactic treatment for severe haemophilia: comparison of an intermediate-dose to a high-dose regimen. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2002 Nov;8(6):753-60. PubMed PMID: 12410643. Epub 2002/11/02. eng.

64. Nilsson IM, Berntorp E, Lofqvist T, Pettersson H. Twenty-five years' experience of prophylactic treatment in severe haemophilia A and B. *Journal of internal medicine*. 1992 Jul;232(1):25-32. PubMed PMID: 1640190.

65. Valentino LA, Mamonov V, Hellmann A, Quon DV, Chybicka A, Schroth P, et al. A randomized comparison of two prophylaxis regimens and a paired comparison of on-demand and prophylaxis treatments in hemophilia A management. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2012 Mar;10(3):359-67. PubMed PMID: 22212248. Pubmed Central PMCID: PMC3488301. Epub 2012/01/04. eng.

66. Aledort LM, Haschmeyer RH, Pettersson H. A longitudinal study of orthopaedic outcomes for severe factor-VIII-deficient haemophiliacs. The Orthopaedic Outcome Study Group. *Journal of internal medicine*. 1994 Oct;236(4):391-9. PubMed PMID: 7931042. Epub 1994/10/01. eng.

67. Witmer C, Presley R, Kulkarni R, Soucie JM, Manno CS, Raffini L. Associations between intracranial haemorrhage and prescribed prophylaxis in a large cohort of haemophilia patients in the United States. *British journal of haematology*. 2011 Jan;152(2):211-6. PubMed PMID: 21114482. Epub 2010/12/01. eng.

68. Oldenburg J, Schroder J, Brackmann HH, Muller-Reible C, Schwaab R, Tuddenham E. Environmental and genetic factors influencing inhibitor development. *Seminars in hematology*. 2004 Jan;41(1 Suppl 1):82-8. PubMed PMID: 14872427.
69. Kasper CK. Diagnosis and management of inhibitors to factors VIII and IX: An introductory discussion for physicians. *Treatment of Hemophilia*. 2004 September 2004;no. 34(World Federation of Hemophilia).
70. Recht M, Pollmann H, Tagliaferri A, Musso R, Janco R, Neuman WR. A retrospective study to describe the incidence of moderate to severe allergic reactions to factor IX in subjects with haemophilia B. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2011 May;17(3):494-9. PubMed PMID: 21518148.
71. Warriar I, Ewenstein BM, Koerper MA, Shapiro A, Key N, DiMichele D, et al. Factor IX inhibitors and anaphylaxis in hemophilia B. *Journal of pediatric hematology/oncology*. 1997 Jan-Feb;19(1):23-7. PubMed PMID: 9065715.
72. Warriar I. Management of haemophilia B patients with inhibitors and anaphylaxis. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 1998 Jul;4(4):574-6. PubMed PMID: 9873797.
73. Thorland EC, Drost JB, Lusher JM, Warriar I, Shapiro A, Koerper MA, et al. Anaphylactic response to factor IX replacement therapy in haemophilia B patients: complete gene deletions confer the highest risk. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 1999 Mar;5(2):101-5. PubMed PMID: 10215957.
74. DiMichele DM. Inhibitors in haemophilia: a primer. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2000 Jul;6 Suppl 1:38-40. PubMed PMID: 10982266. Epub 2000/09/12. eng.
75. Jadhav M, Warriar I. Anaphylaxis in patients with hemophilia. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2000;26(2):205-8. PubMed PMID: 10919414.

76. Shibata M, Shima M, Misu H, Okimoto Y, Giddings JC, Yoshioka A. Management of haemophilia B inhibitor patients with anaphylactic reactions to FIX concentrates. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*. 2003 May;9(3):269-71. PubMed PMID: 12694516.
77. Gouw SC, van der Bom JG, Marijke van den Berg H. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood*. 2007 Jun 1;109(11):4648-54. PubMed PMID: 17289808.
78. Hay CR, DiMichele DM, International Immune Tolerance S. The principal results of the International Immune Tolerance Study: a randomized dose comparison. *Blood*. 2012 Feb 9;119(6):1335-44. PubMed PMID: 22101900.
79. Collins PW, Chalmers E, Hart DP, Liesner R, Rangarajan S, Talks K, et al. Diagnosis and treatment of factor VIII and IX inhibitors in congenital haemophilia: (4th edition). UK Haemophilia Centre Doctors Organization. *British journal of haematology*. 2013 Jan;160(2):153-70. PubMed PMID: 23157203.
80. Streif W, Escuriola Ettingshausen C, Linde R, Kropshofer G, Zimmerhackl LB, Kreuz W. Inhibitor treatment by rituximab in congenital haemophilia A - Two case reports. *Hamostaseologie*. 2009 May;29(2):151-4. PubMed PMID: 19404522. Epub 2009/05/01. eng.
81. Franchini M. Rituximab in the treatment of adult acquired hemophilia A: a systematic review. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2007 Jul;63(1):47-52. PubMed PMID: 17236786.
82. Tengborn L, Hansson S, Fasth A, Lubeck PO, Berg A, Ljung R. Anaphylactoid reactions and nephrotic syndrome--a considerable risk during factor IX treatment in patients with haemophilia B and inhibitors: a report on the outcome in two brothers.

Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia. 1998 Nov;4(6):854-9. PubMed PMID: 10028310. Epub 1999/02/24. eng.

83. Chuah MK, Evens H, VandenDriessche T. Gene therapy for hemophilia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 2013 Jun;11 Suppl 1:99-110. PubMed PMID: 23809114.

84. Finn JD, Nichols TC, Svoronos N, Merricks EP, Bellenger DA, Zhou S, et al. The efficacy and the risk of immunogenicity of FIX Padua (R338L) in hemophilia B dogs treated by AAV muscle gene therapy. *Blood.* 2012 Nov 29;120(23):4521-3. PubMed PMID: 22919027. Pubmed Central PMCID: PMC3512231. Epub 2012/08/25. eng.

85. Franchini M, Gandini G, Di Paolantonio T, Mariani G. Acquired hemophilia A: a concise review. *American journal of hematology.* 2005 Sep;80(1):55-63. PubMed PMID: 16138334.

86. Huth-Kuhne A, Baudo F, Collins P, Ingerslev J, Kessler CM, Levesque H, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia A. *Haematologica.* 2009 Apr;94(4):566-75. PubMed PMID: 19336751. Pubmed Central PMCID: PMC2663620. Epub 2009/04/02. eng.

87. MASAC RECOMMENDATIONS CONCERNING PRODUCTS LICENSED FOR THE TREATMENT OF HEMOPHILIA AND OTHER BLEEDING DISORDERS (Revised April 2014) [Internet]. National Hemophilia Foundation. 2014.