



HEMOFILIA: Origem, transmissão e terapia génica

Nádia Carolina Amorim Rodrigues (ncar@zmail.pt) nº17670

Biologia Celular e Molecular, Dep. de Química

Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

14 de Janeiro de 2005

Resumo

A hemofilia é uma doença congénita hemorrágica bastante conhecida devido à sua disseminação pelas casas reais europeias durante o séc XIX. Durante muito tempo os escassos avanços científicos não permitiram uma correcta análise da doença nem um tratamento eficaz. Actualmente os concentrados de derivados do plasma humano altamente purificados e os recombinantes génicos constituem a base de tratamento para as pessoas com hemofilia. A terapia génica é um novo conceito terapêutico que oferece a promessa de uma cura definitiva.

Palavras-chave: Hemofilia, hemofilia A e B, factor de coagulação, factor VIII (FVIII), factor IX (FIX), doenças hemorrágicas, hemartroses, adenovírus, recombinantes génicos, terapia génica.

ÍNDICE

1. Introdução.....	2
Definição de hemofilia.....	2
2. Origem e história da hemofilia.....	3
2.1 Primeiros registos históricos.....	3
2.2 Hemofilia nas casas reais.....	3
2.3 O príncipe Alexis da Rússia.....	5
3. Método de transmissão.....	5
3.1 Hereditariedade ligada ao cromossoma X e tipos de hemofilia.....	5
3.2 Transmissão da hemofilia.....	6
3.3 Diagnóstico para mulheres portadoras.....	7
3.4 Aconselhamento genético para a hemofilia.....	8

4. Manifestações Clínicas – Hemorragias.....	9
4.1 Hemartroses.....	10
4.2 Hematomas.....	10
4.3 Hemorragia nas cavidades oral, nasal e pescoço.....	11
4.4 Hemorragia do sistema nervoso.....	11
4.5 Hematúria.....	11
5. Tratamento.....	12
5.1 Cronologia dos tipos de tratamento administrados.....	12
5.2 Tratamento profilático.....	12
5.3 Tratamento actual.....	13
5.4 Desvantagens – Inibidores.....	14
6. Terapia génica.....	15
7. Conclusões.....	16
Referências.....	17

1. Introdução

Definição de Hemofilia

A hemofilia é uma doença congénita hemorrágica, que resulta numa deficiência no processo de coagulação do sangue. Caracteriza-se pela ausência ou acentuada carência de um dos 12 factores de coagulação do sangue, o factor VIII ou factor IX ^[1], designando-se hemofilia A (~90%) ou hemofilia clássica se em falta estiver o factor VIII e hemofilia B (~10%) ou doença de Christmas correspondente ao factor IX. De transmissão genética ligada ao cromossoma X, aparece quase exclusivamente nos indivíduos do sexo masculino e que afecta 1 em cada 5000, no caso da HA ^[2] e 1 em cada 30.000 no caso da HB ^[2].

Considerando que no nosso país há aproximadamente 10 milhões de habitantes, o número teórico rondaria os 1000, admitindo uma igual repartição de sexos, no entanto há somente 600 recenseados na Associação Portuguesa dos Hemofílicos ^[3], concluindo-se que provavelmente devido à falta de, quer um registo nacional de hemofílicos, quer de esclarecimento da doença, alguns hemofílicos estão ainda sem diagnóstico e portanto sem assistência médica apropriada. Sabe-se que 75% da população mundial hemofílica vive sem diagnóstico e tratamento ^[4,5].

É reconhecido que 30% dos casos são esporádicos, isto é, aparecem por mutações génicas e 70% são hereditários ^[6].

Esta doença provoca hemorragias frequentes nas hemofilias graves, especialmente a nível articular (hemartroses) e muscular (hematomas). Se as hemorragias não forem tratadas, ou tratadas tardiamente, ocasionam lesões articulares e levam, quase sempre, a posteriores incapacidades físicas irreversíveis.

A determinação das sequências nucleotídicas que codificam o factor VIII e o factor IX tornou possível o estudo de grande parte dos defeitos genéticos causadores da hemofilia. Uma inversão intracromossômica do gene do factor VIII, a inversão do intrão 23 ^[7], é responsável por cerca de 45% dos casos de hemofilia A grave e de 20% de todos os casos de hemofilia A.

2. Origem e história da hemofilia

2.1- Primeiros registos históricos

A hemofilia é conhecida como a “doença do sangue azul “ pois ocorreu em diversas famílias reais da Rússia e da Europa.

Os estudos mais antigos que se conhecem têm mais ou menos 1700 anos. Num povo de judeus, os rabinos ao praticarem a circuncisão verificaram que alguns rapazes sangravam abundantemente ^[8], nessa altura não se sabia o que era a hemofilia, mas verificaram que só em certas famílias isso acontecia. Como era um costume religioso, foram elaborados novos regulamentos que consistiam no seguinte:

- Foi declarado pelo rabino Judah que os rapazes que tivessem irmãos mais velhos com problemas de sangramento ficavam livres dessa prática, uma vez que devido ao falecimento de algumas crianças por sangrarem até à morte existia o receio que acontecesse novamente.

Posteriormente foram encontrados escritos que testemunhavam aparições de casos de hemofilia em vários locais do Mundo. O nome de hemofilia apareceu pela primeira vez no século XI através de um médico árabe de nome Albucaasin. Durante o século XII outro rabino de nome Maimónides descobriu que a hemofilia era transmitida pela mãe, por isso foi criada uma nova lei:

- Se uma mãe que tivesse filhos com esse problema e que se casasse novamente nenhum dos seus descendentes seria circuncidado.

Em 1800 um médico americano chamado John C. Otto elaborou o primeiro estudo sobre as famílias hemofílicas, e durante o ano de 1803 descobriu a genética da hemofilia “A”. Verificou que as mães sem problema de sangramento poderiam transmitir hemofilia aos seus filhos ^[9].

2.2- Hemofilia nas casas reais

A história da hemofilia tem ligação com grande parte das casas reais europeias, já que foi disseminada pelos descendentes da Rainha Vitória de Inglaterra (que era portadora da doença).

Vitória era neta de Jorge III e filha única do Duque Eduardo de Kent e de Vitória, Princesa de Saxe – Coburgo. Em 1837 sucedeu ao trono, casando três anos mais tarde com Alberto de Saxe – Coburgo ^[10]. Deste casamento nasceram nove filhos, um era hemofílico, chamava-se Leopoldo, e duas raparigas, Alice e Beatriz, eram também portadoras de hemofilia.

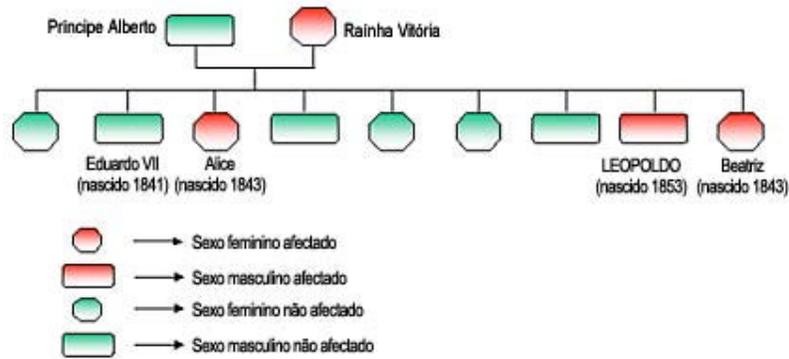


Figura 1: Genealogia da hemofilia na descendência da Rainha Vitória

Leopoldo era o mais novo dos rapazes e nasceu em 1853. Sofria de uma hemofilia grave, que lhe provocou muitas hemartroses. Aos 29 anos casou com Helena de Waldeck^[10], e tiveram dois filhos, um rapaz e uma rapariga de nome Alice. A filha Alice como era portadora, teve um filho hemofílico, chamava-se Roberto que morreu num acidente de carro em 1928.

Como se disse anteriormente, a rainha Vitória teve duas filhas portadoras, Alice e Beatriz. A princesa Alice teve seis filhos sendo um hemofílico, chamava-se Frederico, e duas filhas, Alexandra e Irene, que eram portadoras da doença.

A segunda filha da rainha Vitória, Beatriz, transmitiu a hemofilia à família espanhola, ao casar-se com o Príncipe Henrique de Battenberg em 1885^[10]. Tiveram quatro filhos, dois deles, Maurício e Leopoldo eram hemofílicos e ambos foram mortos durante a Guerra.

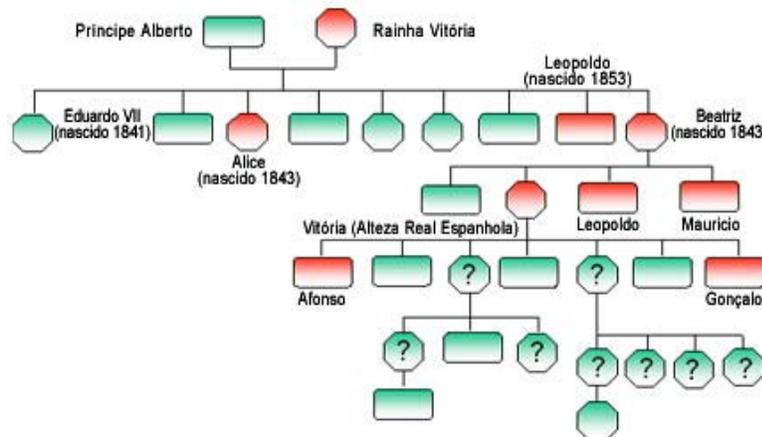


Figura 2: Genealogia da hemofilia na descendência da princesa Beatriz

2.3- O Príncipe Alexis da Rússia

Uma das netas da rainha Vitória, Alexandra (filha da princesa Alice) casou com Nicolau Romanov, Czar da Rússia^[10]. Em 1904 nasceu o seu filho Alexis que também era hemofílico.

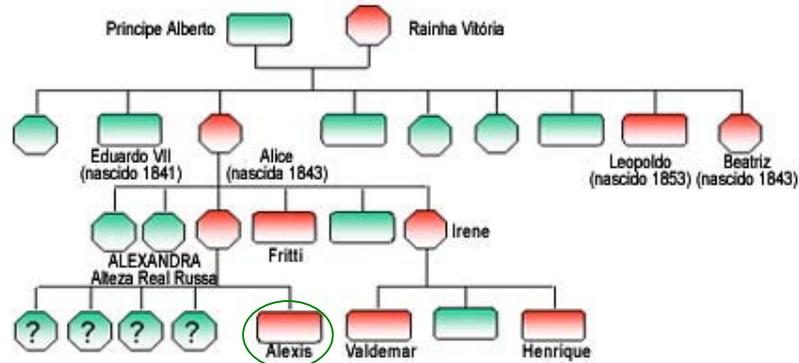


Figura 3: Genealogia da hemofilia na descendência da princesa Alexandra, imperatriz da Rússia.

Foram contratados os melhores médicos que existiam e fizeram todos os tratamentos possíveis na época para atenuar o sofrimento do pequeno Alexis, mas sem resultados satisfatórios. Por altura de uma crise hemorrágica de Alexis, em que se temia pela sua vida, apareceu um homem religioso, chamado Gregory Rasputin. Rasputin era um homem do povo, que andava andrajosamente vestido, mas que conseguia alguns resultados com os seus tratamentos à base de hipnose, isto é, aliviava o sofrimento de Alexis, e como ele ficava mais calmo a hemorragia parava mais facilmente. A partir desse momento sempre que existia uma hemorragia, era certo que Rasputin era chamado.

Como este homem tinha o poder de salvar o seu filho, a Imperatriz Alexandra e o Czar passaram a protegê-lo e concederam-lhe muitos privilégios, o que suscitou invejas das pessoas que ocupavam os mais altos cargos do reino.

Devido ao facto de terem um filho hemofílico e quase sempre doente, com crises hemorrágicas, os czares da Rússia não desempenhavam as suas funções de governantes com o empenho e a dedicação que seria de esperar dos dirigentes de um nação^[11].

Foi assim que uma Rússia mal preparada em termos militares, com dificuldades económicas gravíssimas entrou na Primeira Guerra Mundial que matou 2 milhões de russos^[12].

A guerra agravou ainda mais a situação económica do país e neste ambiente criado, muitos grupos queriam mudar a Rússia. Assim, nos princípios de 1917, Rasputin foi morto e o Czar foi forçado a abdicar, iniciando-se uma guerra civil, a revolução bolchevique^[13].

Durante a guerra civil toda a família do czar foi assassinada, nessa altura Alexis tinha 14 anos. A hemofilia de Alexis “ajudou” a mudar a Rússia e o curso da história do mundo.

3. Método de transmissão

3.1 – Hereditariedade ligada ao cromossoma X e tipos de hemofilia

A hemofilia é uma doença de transmissão genética recessiva ligada ao cromossoma X, a sua hereditariedade é assim ligada aos cromossomas sexuais^[14,15]. Consiste numa

anomalia resultante de uma alteração no gene dos **factores VIII** (hemofilia A) ou no gene do **factor IX** (hemofilia B) que comandam a síntese proteica, necessária à sequência de reacções que ocorrem na coagulação sanguínea.

As duas formas de hemofilia resultam assim de genes recessivos localizados no cromossoma X, sendo os homens clinicamente afectados, e as mulheres portadoras [15]. já que a ocorrência de mulheres hemofílicas é quase inexistente (cerca de meia dúzia de casos documentados).

A gravidade clínica depende do nível de actividade dos factores VIII e IX existente no plasma sanguíneo [1]:

- Hemofilia grave – tem 0 a 1 % de actividade normal
- Hemofilia moderada – tem 1 % a 5 % de actividade normal
- Hemofilia ligeira – tem 6% a 24 % de actividade normal
- Indivíduos portadores: têm 25 % a 49 % de actividade normal
- Indivíduos saudáveis: têm cerca de 100 % (nível médio na população)

3.2 – Transmissão de hemofilia

Os cromossomas X e Y passam de uma geração à outra como qualquer outro par de cromossomas. Os gâmetas femininos, para além dos autossomas, possuem ainda um cromossoma X. Quanto aos gâmetas masculinos, diferenciam-se com igual probabilidades os que transportam, para além dos autossomas, o cromossoma X e os que transportam o cromossoma Y. Como todos os óvulos possuem um cromossoma X, o sexo de uma criança é determinado pelo cromossoma sexual transportado no espermatozóide. Se este contém um cromossoma X será rapariga, e se contém um cromossoma Y será rapaz [16,17] (figura 4).

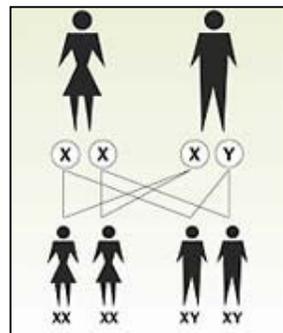


Figura 4: Determinação do sexo

A probabilidade de nascer um rapaz é teoricamente igual à probabilidade de nascer uma rapariga (50 % cada).

Através da figura 5 verifica-se que, se uma mulher portadora tiver descendência de um indivíduo saudável, há a probabilidade de 50 % das suas filhas serem portadoras e 50 % dos seus filhos serem hemofílicos. O rapaz que herdou o cromossoma X com o alelo recessivo, isto é, com o alelo anormal, é hemofílico já que os genes localizados no cromossoma X manifestam-se sempre, quer sejam dominantes quer sejam recessivos, pois são únicos. Por esta razão é mais frequente manifestar-se uma característica recessiva nos indivíduos do sexo masculino do que nos indivíduos do sexo feminino [16,17]. Este rapaz será incapaz ou

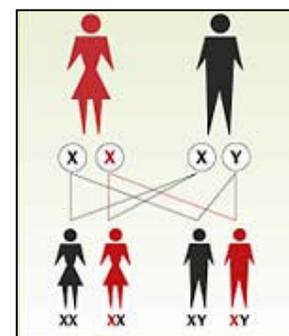


Figura 5: Transmissão da hemofilia. Mulher portadora e homem saudável

pouco capaz de sintetizar os factores VIII e IX, podendo ter percentagens na ordem dos 0 % a 30 % da actividade destes factores [17].

A rapariga que herda também o cromossoma anormal é somente portadora, uma vez que existem dois cromossomas X nas mulheres, os genes localizados nesses cromossomas formam pares de alelos que funcionam como nos autossomas, isto é, os alelos recessivos só se manifestam em casos de homozigotia [14].

Assim as mulheres são portadoras e têm entre 25 % a 75 % de actividade do factor VIII ou IX no seu plasma, o que clinicamente não ocasiona nenhum sintoma específico da hemofilia ^[17].

Na figura 6 verifica-se que no caso de um homem hemofílico e de uma mulher saudável, a sua descendência masculina vem 100 % normal, já que o cromossoma Y que herdam do pai não possui o gene anormal da doença. Já a descendência feminina é 100% portadora de hemofilia, já que recebe necessariamente o cromossoma X do pai com o alelo recessivo ^[18,19].

Para uma rapariga ser hemofílica é necessário herdar um cromossoma X de um pai hemofílico e um cromossoma X de uma mãe portadora, e como o gene da hemofilia é relativamente raro, estes casos são muito poucos no mundo. A sua percentagem de actividade de factores VIII ou IX para os portadores compreender-se-á no intervalo entre 0 % a 30 %.

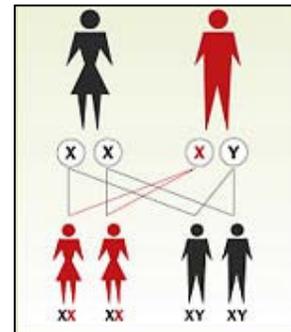


Figura 6: Transmissão da hemofilia. Mulher saudável e homem hemofílico

Por vezes surgem casos de hemofílicos sem história de antecedentes familiares, o que se pode explicar de duas maneiras:

- A doença pode passar de geração em geração através de portadores com o gene latente.
- Ocorrência de uma mutação, por acção de agentes externos (ex. radiações), esta anomalia pode transmitir-se à descendência ^[20].

Segundo as últimas investigações a hipótese de ocorrência de mutações é mais plausível, o que explicaria a persistência da doença ao longo dos tempos.

3.3 – Diagnóstico para mulheres portadoras

Novos métodos imunológicos permitem aumentar a detecção de doenças patológicas de coagulopatias hereditárias ^[21], e verificar se a afecção está latente ou notória, pois é possível medir a quantidade de factor VIII activo realmente presente, quer pela actividade anti-hemofílica numa amostra sanguínea, quer por métodos imunológicos ^[20].

Actualmente admite-se que na hemofilia tanto o factor VIII como o factor IX não se encontram ausentes, mas sim inactivos e bastaria confrontar os resultados obtidos pelas dosagens de actividade dos factores com as dosagens pelos métodos imunológicos, concluindo-se que se trata de uma anomalia latente, isto é, a presença de uma mulher portadora, no caso de discrepância significativa entre valores.

Se esta discordância de valores de actividade dos factores de coagulação não é encontrada na mãe da pessoa com hemofilia ou portadora de hemofilia, quer dizer que ocorreu uma mutação, uma mudança genotípica brusca ^[20]. Esta técnica de comparação de valores de actividade dos factores dos indivíduos com os obtidos pelos métodos imunológicos, permitiu uma melhor detecção de mulheres que estão em estado de portadoras da hemofilia e portanto de transmitirem à sua descendência.

3.4 – Aconselhamento genético para a hemofilia

O aconselhamento genético permite que as famílias e o indivíduo doente com hemofilia aprendam o diagnóstico da doença e assim a lidar com os problemas inerentes, com os riscos e um melhor conhecimento dos testes disponíveis antes e depois do nascimento.

Inicialmente é necessário definir e identificar a entidade patológica, para assim possibilitar uma melhor precisão de diagnóstico do aconselhamento genético. A hemofilia é das mais graves coagulopatias hereditárias e abrange a hemofilia A (deficiência do factor VIII) e a hemofilia B (deficiência do factor IX).

Na hemofilia A o gene do factor VIII encontra-se localizado na região Xq28 do cromossoma X, presente no fígado, e tem 12 horas de vida. As mulheres portadoras podem transmitir a doença, e assim têm 25 % de probabilidade de terem um filho afectado, 25% de terem uma filha portadora e os restantes 50% correspondem a terem um filho ou uma filha saudáveis ^[21].

As mulheres portadoras podem apresentar sintomas, dependendo do modo como se realizou a lionização. A lionização é o facto de somente um dos cromossomas X da mulher estar activo na célula. Este processo realiza-se ao acaso, e resulta na probabilidade de 50 % das células terem o gene do factor VIII normal expresso, enquanto nas restantes 50 % é o gene do factor VIII afectado que é expresso ^[19].

Se uma mulher tiver mais de 50 % das células do cromossoma X com o gene do factor VIII mutado, pode apresentar alguns problemas hemorrágicos, tais como, uma menstruação intensa, nódos negros, hemorragias nasais ou hemorragias excessivas provocadas por queda, cirurgia ou parto ^[21].

O aconselhamento genético tem evoluído e a investigação molecular tem permitido testes de diagnóstico fetal:

- Nos anos 80, os testes que se realizavam nas mulheres portadoras, consistiam numa análise discriminativa da actividade do factor VIII coagulante e do antigénio relacionado com o factor VIII. O diagnóstico pré-natal é possível realizar entre as 18 a 20 semanas de gestação, através de uma colheita de amostra de sangue fetal, cujo risco de aborto é de 2 %. Foram relatados incidentes na colheita de sangue fetal, que resultavam numa excessiva hemorragia no feto afectado, conduzindo-o à morte ^[21].
- Nos finais do anos 80, foram identificadas sondas de DNA para o gene do factor VIII e para marcadores genéticos estritamente ligados ao gene, o que permitiu análises informativas nas famílias com história de hemofilia A ^[21].

Vários membros da família, incluindo o indivíduo afectado, necessitam de ser testados para delinear a hereditariedade do gene do factor VIII.

O diagnóstico pré-natal pode ainda ser efectuado por amniocentese ou por colheita das vilosidades coriônicas, realizadas entre a 10^a e 16^a semanas de gestação com o risco de 0,5% de morte do feto, facto pelo qual é muito utilizado.

- Em Novembro de 1993, cientistas sob a direcção de Jane Gitschier, investigadora na Universidade da Califórnia-São Francisco, descobriram uma recombinação de DNA na região do factor VIII, tendo como resultado a inversão que inactiva a função do gene.

Actualmente as inversões conhecidas estimam-se em cerca de 45 % dos indivíduos com hemofilia A grave. A análise de inversões permite análises muito precisas na detecção de portadoras e diagnóstico pré-natal. No entanto há casais que recorrem somente a uma ecografia no segundo trimestre de gestação para saber o sexo do feto e no caso de ser rapaz,

prepararem com segurança o parto de maneira a evitarem possíveis hemorragias ao feto, ao nascer.

O factor IX tem 24 horas de vida e encontra-se também no fígado. A hemofilia B é caracterizada por uma síntese defeituosa deste factor IX, componente tromboplastínico do plasma, uma proteína dependente da vitamina K. O gene do factor IX encontra-se localizado na região Xq26.3 – q27.1 [21] do cromossoma X, muito próxima da do gene do factor VIII. O gene do factor VIII com 24 exões é muito maior do que o gene do factor IX que tem somente 8 exões. Nos anos 80 começaram os estudos de ligação genética para hemofilia. Tanto a hemofilia A como a hemofilia B têm os mesmos sintomas, no entanto esta última é muito menos frequente.

Nos últimos 20 anos houve verdadeiros avanços no aconselhamento genético para a hemofilia, dos quais destacamos dois:

- A pré-implantação
- Terapia génica

A pré-implantação permite aos casais testar e seleccionar embriões saudáveis e efectuar assim uma implantação no útero da mulher com total segurança sobre a inexistência do gene mutado da hemofilia, eliminando assim o diagnóstico pré-natal por amniocentese, a biopsia das vilosidades coriônicas ou a colheita de sangue fetal [21].

Num futuro próximo a terapia génica permitirá alterar a expressão ou consequências dos genes da doença da hemofilia, eliminando deste modo os sintomas.

4. Manifestações clínicas – Hemorragias

Todas as pessoas com hemofilia quando sujeitas a pequenos golpes, movimentos bruscos, ou até contracções musculares violentas podem provocar hemorragias subcutâneas musculares ou intramusculares. Logo que uma hemorragia é detectada, esta deve ser tratada o mais rapidamente possível, visto que um tratamento tardio pode provocar complicações de saúde graves e irreversíveis.

Antes de qualquer cirurgia, seja desde um pequeno tratamento dentário até operações complexas, o doente com hemofilia deve ser preparado com uma série de tratamentos pré-operatórios, que consistem na administração do factor de coagulação em falta.

As hemorragias mais frequentes são: hemartroses (nas articulações), hematomas (nos músculos), hemorragias no sistema nervoso, nas cavidades oral e nasal, no pescoço e na urina [22].

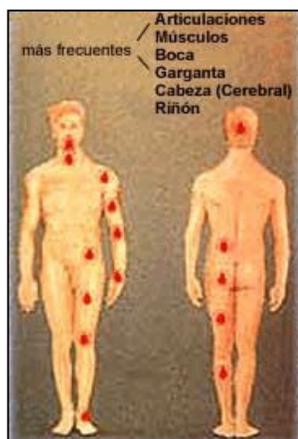


Figura 7: Localização das hemorragias mais frequentes em pessoas com hemofilia

4.1 - Hemartroses

São hemorragias articulares e as mais frequentes e características dos doentes com hemofilia. Podem desenvolver-se repentinamente durante a noite, ficando a articulação cheia de sangue, rígida, quente e assim tornando-se dolorosa, ou então podem ocorrer gradualmente sem dor ficando os movimentos dos músculos parcialmente atingidos [22].

É assim caracterizada pela existência de dor, calor e rubor local em movimento ou em repouso, aumento de volume articular devido à existência de sangue na articulação, o doente adopta uma posição de flexão na zona atingida promovendo deste modo uma menor pressão articular.

As articulações mais atingidas são: no joelho, cotovelo, tibia e fémur, podendo haver envolvimento de qualquer articulação [22].

A administração do factor de coagulação em falta deve ser efectuada imediatamente após a detecção de uma hemorragia, e antes de iniciar o tratamento aperta-se a articulação com uma ligadura elástica, aumentando assim a pressão nos tecidos, ajudando a conter a hemorragia.

Habitualmente as hemorragias não necessitam de uma reposição abundante de factor (se o tratamento for iniciado logo após a hemorragia). Na hemofilia A é somente necessário cerca de 15 a 20 % do factor VIII para dominar a hemorragia. Para regressar à mobilidade completa, o doente poderá necessitar de fisioterapia.

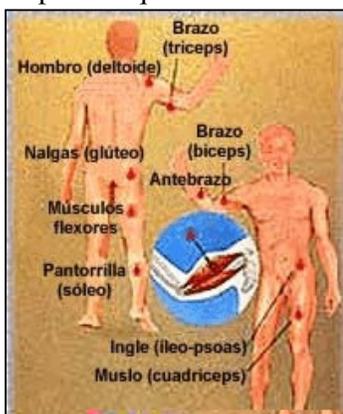
4.2- Hematomas

Os hematomas superficiais, localizados no tecido subcutâneo, que causam desconforto e coloração da pele, não têm significado clínico importante. Podem provocar febre e infecção.

Os hematomas profundos são geralmente intramusculares, e provocam dor e edema e a sua gravidade depende da sua extensão e localização. Os hematomas muito volumosos podem provocar anemia aguda ou problemas neurovasculares.

Quando ocorrem nos membros é necessário imobilizar o doente. O membro afectado deve ser colocado um pouco elevado sobre um plano inclinado. A aplicação de borrachas de gelo embrulhadas em panos de flanela pode ser útil.

Os hematomas do músculo psoas-ilíaco (músculo abdominal) são frequentes e caracterizados por dor abdominal, flexão dolorosa da anca e impossibilidade de levantar o calcanhar do plano do leito. A administração do factor carente deve ser imediata para impedir sequelas como a flexão da anca ou a paralisia dos tendões do joelho.



No músculo do antebraço, hematomas profundos podem causar a contração definitiva dos dedos e mãos, ficando estes em forma de garra. Deve-se ainda imobilizar a mão estendida sobre uma tábua devidamente acolchoada. Quando a fase aguda passa, é necessário vigiar a recuperação do volume, da força muscular e das articulações. Muito frequentemente para um correcto tratamento impõe-se a hospitalização imediata.

Figura 8: Localização de hemorragias musculares em pessoas com hemofilia

4.3 - Hemorragias nas cavidades oral, nasal e pescoço.

Em todas estas regiões é necessário o tratamento imediato, já que a área atingida pode ser grande nos tecidos pouco compactos da cabeça e do pescoço e assim pode interferir na respiração. É necessário administrar o factor em falta em doses muito mais elevadas do que as utilizadas para estancar as hemorragias musculares e das articulações.

Se a hemorragia partiu de uma inflamação da garganta ou de outra zona inflamada, a infecção deve ser tratada com um antibiótico.

Sangrar da língua é muito comum nas crianças, já que é uma consequência de pequenas mordidelas na língua. Nesta situação uma injeção de uma dose moderada do factor em falta permite o restabelecimento sem necessidade de hospitalização.

No caso de se verificar um grande inchaço, são administrados esteróides e diuréticos que reduzem a inflamação, para além do factor carente e dos antibióticos ^[22].

4.4 – Hemorragias do sistema nervoso

São hemorragias relativamente frequentes e a causa de morte de um terço dos doentes com hemofilia. Podem atingir o sistema nervoso central (SNC), a espinal medula, os nervos periféricos como resultado de hemorragias em músculos ou articulações próximas. Metade das hemorragias intracranianas (HIC) são resultantes de traumatismos cranianos; a outra metade é causada por pequenos traumatismos espontâneos que na maior parte das vezes são negligenciados pelos doentes e familiares.

As HIC dividem-se em 3 grupos, relacionados com a localização da hemorragia: subdural, subaracnoidea e intracerebral e apresentam sintomas como as cefaleias, vômitos, convulsões, confusão ou mesmo o estado de coma nos doentes.

O avanço dos métodos de diagnósticos, como o TAC (tomografia axial computadorizada) e o RMN (ressonância magnética nuclear) permitiu um diagnóstico precoce, um tratamento mais eficiente e como consequência a mortalidade causada por estas hemorragias decresceu.

A hemorragia na espinal medula caracteriza-se com a dor no local e perda progressiva da função motora abaixo dela. O tratamento com o factor em falta deve ser imediatamente administrado e a realização do TAC e RMN permitem determinar a localização da lesão.

As hemorragias intramusculares e articulares podem resultar em lesões dos nervos adjacentes. Um hematoma do músculo psoas-ílfaco pode provocar lesão no nervo femoral, hematomas do antebraço envolvem os nervos mediano e radial.

O diagnóstico e o tratamento imediato são essenciais para prevenir atrofia muscular permanente.

4.5 – Hematúria

Trata-se da única hemorragia que os doentes com hemofilia podem deixar sem tratamento, durante um dia, para ver se pára por si só, já que se trata da perda de uma pequena quantidade de sangue na urina. No entanto se a hemorragia for acompanhada por dores, deve ser imediatamente administrado uma pequena dose do factor em falta.

Se a urina aparecer frequentemente tingida de sangue, pode tratar-se de uma infecção, para além da hemorragia que se verifica ^[22].

5. Tratamento

5.1 – Cronologia dos tipos de tratamento administrados

Durante muitos anos não existiu tratamento adequado para esta doença, somente em 1840 um médico inglês ao querer estudar mais profundamente a origem deste problema, administrou pela primeira vez uma transfusão de sangue de um dador são num doente com hemofilia. O resultado foi a mais importante descoberta, o sangramento do hemofílico parou imediatamente. Desde logo e a partir daí não mais pararam os estudos e até aos nossos dias verifica-se uma busca incessante para uma cura da doença.

- Na década de 60 a 70 efectuaram-se transfusões do plasma humano provenientes de dadores, não havendo ainda processos de inactivação. Também nesta década apareceram os crioprecipitados, criados pela Dr^a Pool, fabricados a partir do sangue de dadores ^[5].
- Na década de 70 a 80 os primeiros concentrados comerciais liofilizados, permitiram a possibilidade de intervenções cirúrgicas, profilaxia e auto-tratamento.
- A década de 80, devido à contaminação de agentes infecciosos, a orientação dos estudos voltou-se para a descoberta de processos inactivadores que permitiam um tratamento com segurança e eficácia ^[5].
- Na década de 90 aparecem os primeiros concentrados comerciais de alta pureza e obtenção de factores VIII coagulante por tecnologia recombinante.

Uma vez diagnosticada a hemofilia, há que ter em atenção o seu tratamento. O tratamento pode ser preventivo ou um tratamento face às hemorragias dos pacientes.

5.2 – Tratamento profilático

A profilaxia nos doentes hemofílicos ajuda a prevenir o aparecimento de hemorragias incontroláveis, o que implica uma injeção regular do factor em falta, normalmente 2 a 3 vezes por semana ou então uma injeção do factor carente antes de uma actividade desportiva como o futebol ou basket.

O tratamento profilático não é a cura da hemofilia e não vai evitar todas as hemorragias, mas permitirá um menor número de hemorragias incontroláveis e diminuição das hemorragias nas articulações, menor tempo de internamento em hospitais, menor intensidade de dor, menor número de faltas ao emprego/escola ^[5,23].

A profilaxia é normalmente dirigida a crianças com hemofilia A e B e será mais eficaz quanto mais cedo for iniciada, preferencialmente antes que a criança tenha hemorragias muito frequentes ou desenvolva uma “articulação alvo”.

Nos jovens o tratamento profilático é efectuado no sentido de ajudar a prevenir danos futuros nas articulações. Este tipo de tratamento é denominado profilaxia secundária possibilitando aos jovens e adultos uma vida mais activa ^[5].

A vida de um hemofílico adulto depende directamente do tipo de tratamento a que esteve sujeito durante a sua fase de crescimento, assim a prevenção através da profilaxia, e um rápido tratamento das crises hemorrágicas torna-se fundamental para assegurar uma melhor qualidade de vida.

5.3 – Tratamento actual

A maioria das substâncias utilizadas no tratamento de doenças hemorrágicas deriva do sangue humano. O sangue é extraído de dadores em colheitas especializadas.

Actualmente o tratamento administrado a doentes de hemofilia é através de concentrados de derivados do plasma humano ou produtos fabricados por engenharia genética (recombinantes). Estes produtos permitem aos doentes de hemofilia manterem uma vida activa muito próxima do normal.

No entanto os produtos derivados do plasma humano, administrados às pessoas nem sempre se revestiram da segurança, pureza e eficácia que possuem actualmente, razão pela qual muitos hemofílicos seniores de hoje sofrem de lesões articulares e musculares que, na maioria dos casos, leva a incapacidades físicas irreversíveis.

Uma das batalhas que se trava é a obtenção de processos de inactivação cada vez melhores para permitirem qualidade de vida aos doentes de hemofilia. Os processos de inactivação actuais do plasma humano são: monocolumnais ou por solvente detergente com aquecimento.

O ponto de partida para a preparação de concentrados é o plasma misturado de vários dadores. A mistura é tratada com vários produtos químicos que a separam em várias fracções, isto é, separação em vários componentes, processo conhecido por fraccionamento^[24]. O produto final é um concentrado do factor em falta (factor VIII ou IX) liofilizado e imediatamente antes de ser administrado por via endovenosa, adiciona-se-lhe água para produzir uma solução própria para a injeção.

As vantagens deste processo de fraccionamento são devido ao facto dos factores serem mais estáveis na sua forma seca, o produto final não tem de ser guardado num congelador e uma grande quantidade de actividade está concentrada num pequeno volume.

As desvantagens estão relacionadas com o número elevado de dadores requeridos, já que no processo de fraccionamento se perde alguma actividade. É também muito dispendioso já que os dadores são pagos, e o equipamento para o seu fabrico ser caro, por isso a maioria dos concentrados dos factores de coagulação (I, II, VII, VIII, IX e X), é produzida comercialmente.

Uma outra desvantagem é o facto de estes concentrados derivados do plasma humano estarem inactivados para as doenças conhecidas e não para as desconhecidas, havendo vírus que escapam à detecção e às técnicas de purificação, e uma vez que este medicamento é um derivado do sangue ou do plasma humano, a transmissão de doenças infecciosas não pode ser totalmente excluída.

Os doentes com hemofilia A podem ainda desenvolver anticorpos neutralizantes (inibidores) ao factor VIII^[25]. Na presença de inibidores manifesta-se uma resposta clínica insuficiente.

No entanto verificou-se um grande avanço no tratamento da hemofilia. Começou-se por utilizar transfusões de sangue completas e nos últimos 30 anos descobriram-se métodos de extracção e utilização dos factores deficientes da coagulação possibilitando a produção e comercialização de concentrados, derivados do plasma humano. Ao longo dos tempos os métodos de inactivação para vírus e doenças desconhecidas foram melhorados.

Recentemente com os avanços tecnológicos em engenharia genética introduziram-se concentrados produzidos por tecnologia recombinante, os quais já não são derivados do plasma. A existência de concentrados de factores da coagulação seguros e eficazes e a possibilidade de efectuar tratamento profilático, oferecem um bom prognóstico aos doentes com hemofilia.

No entanto estes doentes são tratados a nível autossómico e não a nível da linha germinativa, isto é, a qualidade de vida do doente com hemofilia pode melhorar

significativamente mas a sua descendência vai herdar o factor deficiente. Não há assim uma cura definitiva para esta doença, mas o transplante do fígado cura definitivamente já que os genes dos factores VIII e IX em falta se encontram no fígado. No entanto nenhum indivíduo pode efectuar um transplante de fígado só por ser hemofílico e sim devido a complicações muito mais graves em que a sua vida se torna dependente de um transplante.

5.4 Desvantagens – Inibidores

O inibidor é uma das complicações mais graves da hemofilia. Trata-se de uma espécie de anticorpo dirigido que destrói substâncias consideradas estranhas ao nosso corpo, neste caso a infusão de factores de coagulação VIII e IX ^[26].

São mais frequentes em indivíduos com hemofilia A grave (cerca de 20 % a 33 %). Para os hemofílicos B grave o desenvolvimento de um inibidor é mais raro e afecta 1 % a 4% dos doentes. Em hemofílicos com percentagens do factor VIII superiores a 5 % o desenvolvimento de um inibidor é raro.

Os inibidores fixam-se ao factor VIII ou IX injectado, neutralizando o tratamento administrado e como consequência a hemorragia não pára.

A maior parte dos inibidores são detectados na infância através de um exame sanguíneo específico chamado “doseamento do inibidor, por método Bethesda”. Este teste confirma a presença de um inibidor e mede a sua quantidade, o resultado é dado em número de unidade Bethesda. Quanto mais alto o número de unidade Bethesda, mais elevada é a presença de inibidores no sangue.

Classifica-se a presença de um inibidor no sangue em: “alto respondedor” ou “baixo respondedor” ^[25].

- Alto respondedor – quando há uma elevada quantidade de unidade Bethesda de inibidores presentes no sangue (> a 5 unidades Bethesda).
- Baixo respondedor – desenvolve-se uma menor quantidade de unidades Bethesda de inibidores no sangue (< a 5 unidades Bethesda).

Verifica-se que a utilização de concentrados derivados do plasma humano provoca um maior aparecimento de inibidores do tipo “alto respondedor” (80 %) e somente uma minoria são transitórios enquanto que com a utilização de recombinante do factor VIII somente metade dos inibidores são altos respondedores e um terço são transitórios.

O tratamento dos doentes “baixo respondedor” efectua-se com concentrados VIII ou IX em doses mais elevadas e mais frequentemente, para neutralizar o efeito do inibidor. Em doentes “alto respondedor” efectua-se a erradicação dos inibidores, através de programas de imuno-tolerância e o tratamento com concentrados do complexo protrombínico (CCP) ou concentrado do complexo protrombínico activado (CCPA).

Estes produtos contêm outros factores activados de coagulação que estimulam a formação dum coágulo que visa parar a hemorragia, contornando assim a necessidade específica do factor VIII ou IX. No entanto a implementação destes concentrados têm alguns inconvenientes. A sua eficácia é limitada no tempo (são necessárias várias doses durante o dia), a coagulação pode ser exagerada e originar uma trombose.

Para colmatar estes problemas, o factor VII activado recombinante (Novo Seven) permite a injeção repetida com segurança de uma boa coagulação. A utilização do factor VIII porcino é uma outra alternativa terapêutica, já que é suficientemente próximo ao factor VIII humano para proporcionar uma eficaz coagulação e suficientemente diferente para não ser reconhecido por certos inibidores ^[25].

O programa de imuno-tolerância para erradicar os inibidores consiste na aplicação de um tratamento, por injeção, de doses altas de factor VIII e IX, geralmente todos os dias ou de 2 em 2 dias durante vários meses ou mesmo anos, associado ou não a medicamentos que intervêm sobre o sistema imunitário.

O principal objectivo deste programa é habituar o sistema imunitário dos doentes hemofílicos com inibidores a aceitar o factor de coagulação administrado. Este tratamento é eficaz em 60 % a 80 % dos casos, mantendo a eficácia por mais de 20 anos.

6. Terapia Génica

O tratamento por terapia génica na hemofilia é um método revolucionário e com esperanças de sucesso, já que se conhece muito sobre a transmissão da doença, a localização e estrutura do gene e a estrutura e função do factor produzido pelo gene.

Têm sido obtidos bons resultados em cobaias animais, através da engenharia genética dos vectores de tratamento dos genes, produzindo aumentos significativos dos níveis do factor de coagulação.

Pretende-se que a concentração do factor em falta no sangue de um paciente aumente de 1 % a 5 % e fixá-la nesse valor, para assim converter a hemofilia grave numa forma mais ligeira. Se se conseguir aumentar a concentração do factor VIII ou IX até 25 % - 50 %, os doentes de hemofilia passariam a ter a mesma propensão a hemorragias que um indivíduo normal.

A terapia génica nos doentes hemofílicos permite que células com os genes dos factores VIII e IX sejam induzidas a produzir o factor de que carecem. Para isso ocorrer são necessários: o veículo ou vector de transporte dos genes, o gene a transferir e a célula alvo específica ^[27].

Esta última deve sobreviver um longo período de tempo e ter fácil acesso à circulação sanguínea. O epitélio intestinal é um alvo atractivo para a terapia génica da hemofilia, devido ao seu elevado número de células que se dividem rapidamente.

Os vectores de transporte dos genes utilizados são: retrovírus, adenovírus^[28] e vírus adeno-associado^[29]. Estes vectores são alterados para impedir a sua reprodução dentro das células.

No entanto a terapia génica envolve alguns obstáculos que se prendem com o facto do nosso corpo poder rejeitar o gene ou destruir o seu produto. O outro problema está relacionado com a dimensão do factor VIII, este por ser um gene muito grande torna difícil o seu transporte para o interior da célula. Desconhece-se ainda a dosagem correcta da injeção intravenosa dos vírus produtores do factor em falta, podendo uma dose baixa não produzir qualquer efeito e não ser assim eficaz, e uma dose mais alta ser tóxica e provocar problemas hepáticos.

Actualmente decorrem três ensaios de terapia génica em pessoas com hemofilia A e B. Num dos ensaios, indivíduos com hemofilia B verificam a segurança da injeção intramuscular de um vector adenovírus. No segundo estudo, pacientes com hemofilia A grave são tratados com um vector retrovírus que contém o gene do factor VIII.

Num terceiro estudo, os fibroblastos da pele de indivíduos com hemofilia A grave foram cultivados em meio de cultura e posteriormente inseriu-se nestas células factor VIII.

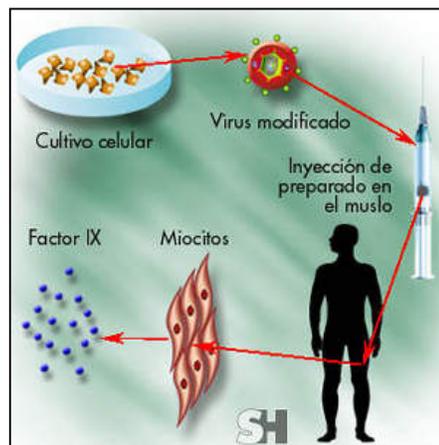


Figura 9: Terapia génica

Estas células foram implantadas no tecido adiposo da barriga dos pacientes. Seis doentes com hemofilia A foram tratados com este último método, dos quais todos tinham hepatite C crónica e quatro estavam infectados pelo HIV.

Em quatro deles verificou-se uma diminuição da frequência de hemorragias. Dois deles não tiveram qualquer hemorragia espontânea pela primeira vez nas suas vidas durante 10 meses ^[27].

Apesar de todos estes avanços, ainda é impossível aos doentes de hemofilia libertarem-se da sua dependência de injeções do factor de coagulação, já que os níveis plasmáticos do factor VIII e IX não se conseguem estabilizar a 5 % no sangue.

O risco de desenvolvimento de inibidores ainda não se conseguiu ultrapassar. Outra preocupação é a introdução de DNA estranho nas células germinais dos pacientes, resultando assim na transmissão para as gerações seguintes das sequências de genes doadas. Se se verificar uma completa correcção do defeito genético, a cura estaria estabelecida.

No entanto, sabe-se que a maioria dos vectores integra-se aleatoriamente e assim as sequências recebidas pelo indivíduo podem integrar-se de uma maneira incorrecta e provocar efeitos nocivos na descendência, ao interromper a sequência genética para o desenvolvimento do embrião.

Apesar de todas estas dificuldades a terapia génica é revestida de uma enorme importância, já que poderá ser o caminho para a cura da hemofilia e é particularmente importante para as pessoas com hemofilia em países em vias de desenvolvimento, que têm pouco acesso a factores recombinantes, pois são dispendiosos.

A hemofilia será provavelmente a primeira doença genética a ser tratada por terapia génica ^[30].

7. Conclusões

A hemofilia é uma doença congénita hemorrágica que consiste na ausência ou carência acentuada do factor de coagulação VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). A sua transmissão está relacionada com o cromossoma X, sendo os homens afectados e as mulheres portadoras.

Manifesta-se através da ocorrência espontânea de hemorragias de vários tipos (hemartroses, hematomas, hematúrias, etc.).

Os tipos de tratamento têm evoluído ao longo dos tempos, iniciam-se com transfusões sanguíneas completas. Nas décadas de 60 a 70 utilizou-se transfusões de plasma humano e criaram-se os crioprecipitados. Na década de 70 a 80 evoluiu-se para um tratamento com os concentrados dos factores VIII e IX liofilizados. Nos anos 90 apareceram os concentrados derivados do plasma humano altamente purificados e os recombinantes génicos, que permitiram à pessoa com hemofilia manter uma vida activa normal.

Actualmente as pesquisas em terapia génica ainda não permitiram descobrir a cura definitiva da hemofilia, mas todos os resultados apontam para que esta seja a primeira doença genética a ser tratada por este processo.

Referências

- [1] Jones, P.; *Living with Haemofilia*; 1ª Edição, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., EUA, **1982**, 49-64 (tradução pela Associação Portuguesa dos Hemofílicos)
- [2] Rickard, K.; *Hemophilia – The diagnosis of hemophilia A and B and Willebrand's disease*; 1º Edição, Chapman & Hall, Londres, **1997**, 50-65
- [3] Site: <http://www.aphemofilicos.pt> (Novembro de 2004) – Associação Portuguesa dos Hemofílicos
- [4] Site: <http://www.hemophilia.org> (Novembro de 2004) - National Hemophilia Foundation(EUA)
- [5] Site: <http://www.wfh.org> (Novembro de 2004) – World Federation of Hemophilia (Canadá)
- [6] Jones, P.; *Living with Haemofilia*; 1ª Edição, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., EUA, **1982**
- [7] Nakaya, S.; Hsu, T.; Geraghty, S.; Manco-Johnson, M.; Thompson, A.; *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2 (11), **2004**, 1941-1945
- [8] Karaman, M.; Zulfikar, B.; Caskurlu, T.; Ergenekon, E.; *Journal of Pediatric surgery* 39 (10); 2004, 1562-1564
- [9] Site: http://www.aphemofilicos.pt/hemofilia_historia.asp (Novembro de 2004) – Associação Portuguesa dos Hemofílicos
- [10] Site: <http://genealogia.sapo.pt> (Novembro de 2004)
- [11] *Alexis, o príncipe que tinha hemofilia* – Documentação fornecida pela Associação Portuguesa dos Hemofílicos.
- [12] Diniz, M.; Tavares, A.; Caldeira, A.; *História* ; 4ª Edição; Editorial O Livro, Lisboa, **1997**, 24-29
- [13] Diniz, M.; Tavares, A.; Caldeira, A.; *História* ; 4ª Edição; Editorial O Livro, Lisboa, **1997**, 38-42
- [14] Amabis, J.; Martho, G.; *Biologia das populações – genética, evolução e ecologia* (3), 1ª Edição, Editora Moderna, São Paulo, **1994**, 136-141
- [15] Watson, J.; Hopkins, N.; Roberts, J.; Steitz, J.; Weiner, A.; *Molecular Biology of the gene* (1), Benjamin Cummings Publishing Company, EUA, **1987**, 62-75
- [16] Klug, W.; Cummings, M.; *Concepts of Genetics*; 7ª Edição, Prentice Hall; New Jersey, **2003**; 14, 15, 181,362

- [17] Jones, P.; *Living with Haemofilia*; 1ª Edição, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., EUA, **1982**, 63-78
- [18] Geoffrey, M.; *The Cell – A molecular approach*; 2ª Edição; ASM Press; Washington D.C.; **2000**; 93
- [19] Watson, J.; Hopkins, N.; Roberts, J.; Steitz, J.; Weiner, A.; *Molecular Biology of the gene* (1), Benjamin Cummings Publishing Company, EUA, **1987**, 72-75
- [20] *Aspectos genéticos da hemofilia* – Documentação fornecida pela Associação Portuguesa dos Hemofílicos.
- [21] Artigo *Aconselhamento genético para a hemofilia*, Revista *Hémaware*, National Hemophilia Foundation(EUA) – disponível no site http://www.aphemofilicos.pt/hemofilia_artigos_acons_genetico.asp
- [22] Jones, P.; *Living with Haemofilia*; 1ª Edição, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., EUA, **1982**, 115-120
- [23] Site: <http://www.haemophilia.org.uk> (Dezembro de 2004) – The Haemophilia Society
- [24] Jones, P.; *Living with Haemofilia*; 1ª Edição, Medical and Technical Publishing Co. Ltd., EUA, **1982**, 101-107
- [25] Michele, D.; *l'hémophile*; **2003** – disponível do site: http://www.aphemofilicos.pt/hemofilia_artigos_inibidores.asp
- [26] Key, N.; *British Journal of Haematology* **127** (4); **2004**, 379-391
- [27] Salimy, C.; *Hemophilia Today* **3** (36); **2001**, 11-13 – disponível no site: http://www.aphemofilicos.pt/hemofilia_artigos_terapia_genica.asp
- [28] Chao, H.; Koehler, D.; Hu, J.; *Viral Immunology* **17** (3); **2004**, 327-333
- [29] Chao, H.; Walsh, C.; *Mount Sinai Journal of Medicine* **71** (5); **2004**, 305-313
- [30] Nathwani, A.; Benjamin, R.; Nienhuis, A.; Davidoff, A.; *Vox Sanguinis* **87** (2); **2004**, 73-81