

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA TROMBOFILIA HEREDITÁRIA

Camila Guimarães Azevedo Lima¹, Roberta Rodrigues de Souza¹, Mara Soares de Almeida Mota²

RESUMO

A trombofilia é considerada uma alteração no equilíbrio do organismo ocasionando uma predisposição a trombooses. As que são decorrentes de condições hereditárias, são causadas por deficiência no bloqueio da cascata de coagulação, devido a mutações genéticas nos fatores anticoagulantes ou por mutações nos fatores pró-coagulantes. Diante disso, questiona-se, quais os principais métodos laboratoriais podem auxiliar na determinação das deficiências genéticas relacionadas às trombofilias hereditárias de forma mais eficaz? O presente estudo teve como objetivo geral descrever os principais métodos de diagnóstico laboratorial da trombofilia hereditária. Para o desenvolvimento deste, foi realizado uma pesquisa literária com base em artigos e resumos científicos, dissertações e monografias, pesquisados no Google Acadêmico, Scientific Electronic Library Online (Scielo) e livros. Os métodos laboratoriais são indispensáveis para a determinação da trombofilia hereditária, pois, além de identificar qual o tipo de mutação ocasiona a deficiência nos inibidores da coagulação, é de extrema importância para direcionar a terapia adequada ao portador e, conseqüentemente, evitar o desenvolvimento de complicações mais graves da doença. Os principais métodos de diagnóstico laboratorial são, as dosagens de antitrombina, proteína C, proteína S, homocisteína, níveis do fator VIII, dosagem e análise gênica do Fator V de Leiden e análise gênica da protombina G20210A. O objetivo desses métodos consiste em identificar os fatores que favorecem o desenvolvimento do distúrbio de coagulação. Embora haja poucas informações sobre a profilaxia, os pacientes devem ser avaliados individualmente acerca do risco de eventos tromboembólicos. Recomenda-se a prevenção com anticoagulante em indivíduos que portam mutações genéticas relacionadas a trombofilia hereditária.

Palavras-chave: Trombofilia hereditária. Hipercoagulabilidade. Diagnóstico laboratorial.

ABSTRACT

Thrombophilia is considered as a change in body balance causing a predisposition to thrombosis. Thrombophilias due to hereditary conditions are caused by deficiency in blocking the coagulation cascade, due to genetic mutations in anticoagulant factors or mutations in procoagulant factors. To confirm cases of hereditary thrombophilia specific analyzes are required to indicate the types of genetic mutations. These tests analyze the plasma concentration of the mechanisms that prevent coagulation. But what major laboratory methods can help determine genetic deficiencies related to hereditary thrombophilias most effectively? Laboratory methods are indispensable for the determination of hereditary thrombophilia, because, besides identifying which

1 Acadêmicas do curso de Bacharel em Biomedicina, Instituto Educacional Santa Catarina. Guaráí-TO. E-mail: camila.gui2009@hotmail.com.Robertabiomed@outlook.com

2 Biomédica, Professora do Curso de Biomedicina, Instituto Educacional Santa Catarina. Guaráí-TO. E-mail: mara.almeida06@gmail.com

type of mutation causes the deficiency in coagulation inhibitors, it is extremely important to direct the appropriate therapy to the carrier and, consequently, to avoid the development of complications. most severe of the disease. The present work aimed to describe the methods of laboratory diagnosis of hereditary thrombophilia. Consists of a literary research The proposed work consists of a literary research based on data from articles and scientific summaries of Google Scholar, Scielo and books, with languages in Portuguese, Spanish and English, referring to the last ten years. The objective of laboratory diagnostic methods for hereditary thrombophilia is to identify factors that may cause the disease. It is essential to identify the cause of thromboembolic events so that it is possible to adopt an appropriate treatment strategy and prevent the recurrence of these events.

Keywords: Hereditary thrombophilia. Hypercoagulability. Laboratory diagnosis.

INTRODUÇÃO

A hipercoagulabilidade é determinada por alterações nos fatores naturais da inibição de coágulos, além de outras complicações específicas. Essas condições são caracterizadas como trombofilia e podem ocorrer em condições hereditárias ou adquiridas^{1,2,3}. Geralmente as obstruções causadas pelos trombos são desenvolvidas nas artérias e veias, sendo mais prevalentes no sistema venoso⁴.

As trombofilias decorrentes de condições hereditárias, são ocasionadas por deficiência no bloqueio da cascata de coagulação, devido a mutações genéticas nos fatores anticoagulantes como proteína C (PC), antitrombina (AT) e proteína S (PS) ou por mutações nos fatores pró-coagulantes, incluindo o Fator V de Leiden e gene da protombina G20210A, elevando o risco das doenças tromboembólicas^{3,5}.

Diferente das causas hereditárias, as doenças tromboembólicas adquiridas surgem por circunstâncias multifatoriais, como nos casos do uso de contraceptivos orais e terapia de reposição hormonal, na gestação, em síndrome antifosfolípide e imobilização. Alguns destes fatores geram o aumento da síntese de elementos da coagulação e por consequência reduz a síntese de anticoagulante^{4,6}.

Na investigação laboratorial das deficiências de eventos trombolíticos, são realizadas não apenas estudos físicos ou relatos de histórico familiar do indivíduo, mas também exames específicos e complementares que determinam o diagnóstico, direcionando o possível tratamento. Esses exames analisam a concentração plasmática dos mecanismos que impedem a coagulação^{7,8}.

Os fatores genéticos correlacionados a trombofilia aumentam a incidência de riscos para episódios trombolíticos, sendo que muitos portadores dos estados de hipercoagulabilidade são assintomáticos e a avaliação da mesma ocorre após o primeiro evento trombolítico. Para confirmar casos de trombofilia hereditária são necessárias análises específicas para indicar os tipos de mutações genéticas.

Em razão do que foi apresentado levanta-se a seguinte problemática: Quais os principais métodos laboratoriais podem auxiliar na determinação das deficiências genéticas relacionadas às trombofilias hereditárias? Os métodos laboratoriais são indispensáveis para a determinação da doença, pois, além de identificar qual o tipo de mutação ocasiona a deficiência nos inibidores da coagulação, é de extrema importância para direcionar a terapia adequada ao portador e, consequentemente, evitar o desenvolvimento de complicações mais graves. As análises existentes são direcionadas a dosagem dos anticoagulantes naturais e as alterações desses fatores

é de tendência genética, prejudicando sua atividade normal. Existem desvantagens nas análises dos testes para trombofilia, pois geralmente só são solicitados depois do primeiro episódio de trombose venosa, neste caso, há um baixo risco de recidiva de trombofilia hereditária, também é importante ressaltar que na maioria das vezes os eventos podem não se apresentar novamente.

Os distúrbios tromboembólicos consistem em um transtorno de saúde no mundo, devido ser uma das razões de incapacidade, mobilidade e mortalidade, com ocorrência na população em geral, sendo um caso para cada mil pessoas por ano, aspectos genéticos e ambientais colaboram para o desencadeamento da trombofilia⁹.

Desta forma, justifica-se este estudo pela dificuldade existente de encontrar bibliografias atuais que discutem com especificidade este assunto, o que torna uma colaboração importante, visando estabelecer informações que venham auxiliar no preparo de profissionais na área da saúde e pesquisas biomédicas, por meio de uma atualização bibliográfica relacionando os métodos mais eficazes no diagnóstico, considerando o número crescente de pessoas que são acometidas por esse distúrbio, e também pela dificuldade de determinação das trombofilias hereditárias, uma vez que os portadores são assintomáticos e não procuram diagnóstico precoce.

O presente trabalho teve como objetivo geral evidenciar a partir da literatura os principais métodos laboratoriais para diagnóstico da trombofilia hereditária e como objetivos específicos, discorrer sobre a trombofilia hereditária apresentando seu conceito, causas, fatores de risco; abordar sobre o processo de coagulação sanguínea; relatar sobre a profilaxia do tromboembolismo venoso (TEV) e seu tratamento em pacientes com trombofilia hereditária.

METODOLOGIA

O trabalho proposto consiste em uma pesquisa de revisão bibliográfica narrativa de abordagem qualitativa, descritiva e exploratório, com base em dados de livros, artigos e resumos científicos, nacionais e internacionais, dissertações e monografias relacionados ao assunto abordado, tendo como referências principais as publicações dos últimos dez anos. A pesquisa foi desenvolvida entre os meses de fevereiro a outubro do ano de 2019, período em que foram pesquisados 79 estudos científicos, dentre estes, foram selecionados 28, utilizando como critério para a seleção, informações relevantes sobre o diagnóstico da trombofilia hereditária. Foram utilizados como fontes de pesquisa os sites Google Acadêmico, Scientific Electronic Library Online (SCIELO) e livros presentes na biblioteca física e virtual do Instituto Educacional Santa Catarina – IESC, utilizando as seguintes palavras chaves: diagnóstico laboratorial, trombofilia hereditária e hipercoagulabilidade.

REVISÃO DE LITERATURA

Trombofilia hereditária

A trombofilia é considerada como uma alteração no equilíbrio do organismo ocasionando uma predisposição a trombooses, que consiste na formação de coágulos em veias ou artérias. Modificações de DNA da protombina e no fator V de coagulação são elementos que desencadeiam a trombofilia. Isso provoca a elevação

da protombina na circulação sanguínea e a diminuição da sensibilidade do fator V de Leiden à proteína C ativada, agente inibidor deste fator, causando um aumento na formação de coágulos sanguíneos^{6,10}.

A insuficiência de antitrombina e outros anticoagulantes fisiológicos, também são característicos de trombofilias hereditárias, porém essa forma é de menor prevalência. Alterações trombofílicas hereditárias podem ser detectadas em aproximadamente 50% das pessoas que manifestam tromboembolismo venoso (TEV)^{6,10}. Há uma relação de mulheres com disposição genética e consumo de contraceptivos orais, ao aumento do risco de trombose. Essa condição é ocasionada devido a concentração elevada dos hormônios e o uso prolongado do fármaco, que, dependendo da dosagem de estrogênio presente no medicamento, induz alteração nos fatores de coagulação^{11,12}. Desta forma, a Organização Mundial da saúde (OMS) recomenda que deve ser evitada a utilização de anticoncepcionais em mulheres portadoras de mutações ligada a trombose¹³.

Na trombofilia hereditária, o episódio primário trombótico ocorre usualmente em indivíduos a partir dos 45 anos de vida, podendo ocasionar em menor frequência nos mais jovens¹. A trombofilia hereditária não é classificada como um dos fatores determinantes de recorrência em pessoas com TEV preexistente, possuindo uma influência mínima no ato de prologar a anticoagulação¹⁴. As modificações genéticas que determinam esse distúrbio envolve a insuficiência da PC, PS, AT, plasminogênio, desfibrinogenemia, resistência a PC ativa, mudança no DNA da protrombina, estimulação das plaquetas, ampliação do acúmulo de condições para coagulação, em específicas condições, como os fatores VII, VIII, IX, XI, e as mudanças no complexo fibrinolítico, o qual está ligado ao aumentado risco de trombose. Algumas pesquisas apontam duas maneiras de deficiência genética relacionada a trombose: modificações que resultam na má formação dos bloqueadores e transformação que induz a extensão da atividade dos elementos da formação de trombos¹.

Coagulação sanguínea

A circulação sanguínea tem como finalidade fornecer ao organismo, hormônios, nutrientes, entre outras substâncias necessárias ao seu funcionamento, além de retirar produtos metabólicos para serem eliminados, de forma a manter a homeostasia do corpo. Nesse sentido, o coração funciona como uma bomba que propulsiona o sangue, em uma pessoa adulta, o fluxo sanguíneo total na circulação é aproximadamente de 5.000mL/min, sistematizada com níveis equidistantes ao endotélio que resulta em um segmento de sangue mais centralizado para que as células não entrem em contato com a parede do vaso¹⁵.

A hemostasia é um encadeamento fisiológico que abrange o fluxo sanguíneo atuando no controle de sangramento em caso de lesão no endotélio com o intuito de impedir a perda de sangue sendo uma manifestação fundamental para a sobrevivência. Esse processo, quando em circunstâncias comuns, acontece envolvendo o desempenho de quatro fases essenciais: vascular; plaquetária; coagulação sanguínea e; fibrinolítica¹⁵.

Fase Vascular

Nesta fase, posterior à lesão, acontece uma reação hemostática peculiar: a vasoconstrição. Esta condição é provocada através da contração da parede do vaso

sanguíneo fazendo com que o fluxo sanguíneo seja diminuído neste vaso. Essa reação é resultante principalmente do impulso nervoso provocado pelos estímulos produzidos pela sensação de dor, e é elevada por um vasoconstritor potente, a endotelina, que é originada do endotélio¹⁵.

Fase Plaquetária

Após a lesão no vaso sanguíneo, as plaquetas se ligam a matriz extracelular exposta (MEC) sendo ativada pelo fator de Von Willebrand existente na parede vascular que sofreu a lesão, modificando sua formação e liberando as enzimas essenciais para a produção do tromboxano A₂, fator de ativação plaquetária (PAF), serotonina e o difosfato de adenosina (ADP). Desta maneira, outras plaquetas são ativadas sucessivamente transformando-se em um agregado instável. Contudo, forma-se um tampão plaquetário que suprime o extravasamento sanguíneo, porém, apenas em lesões pequenas. Em seguida, esse tampão se compacta no processo de coagulação sanguínea em virtude dos filamentos de fibrina que se aderem, tornando-o um tampão hemostático secundário definitivo¹⁵.

Fase da Coagulação Sanguínea

Esta fase compreende a conversão do sangue líquido em um coágulo gelatinoso. O tempo de coagulação varia conforme o grau de gravidade da lesão. Quanto maior a lesão, menor o tempo de coagulação. Esse processo é consequência da cascata de coagulação classificada em vias extrínseca e intrínseca. A fibrina insolúvel do tampão hemostático secundário é formada pelas etapas da cascata. Em cada uma das etapas, um fator é convertido em protease ativa o que produz uma maior quantidade do fator subsequente¹⁵.

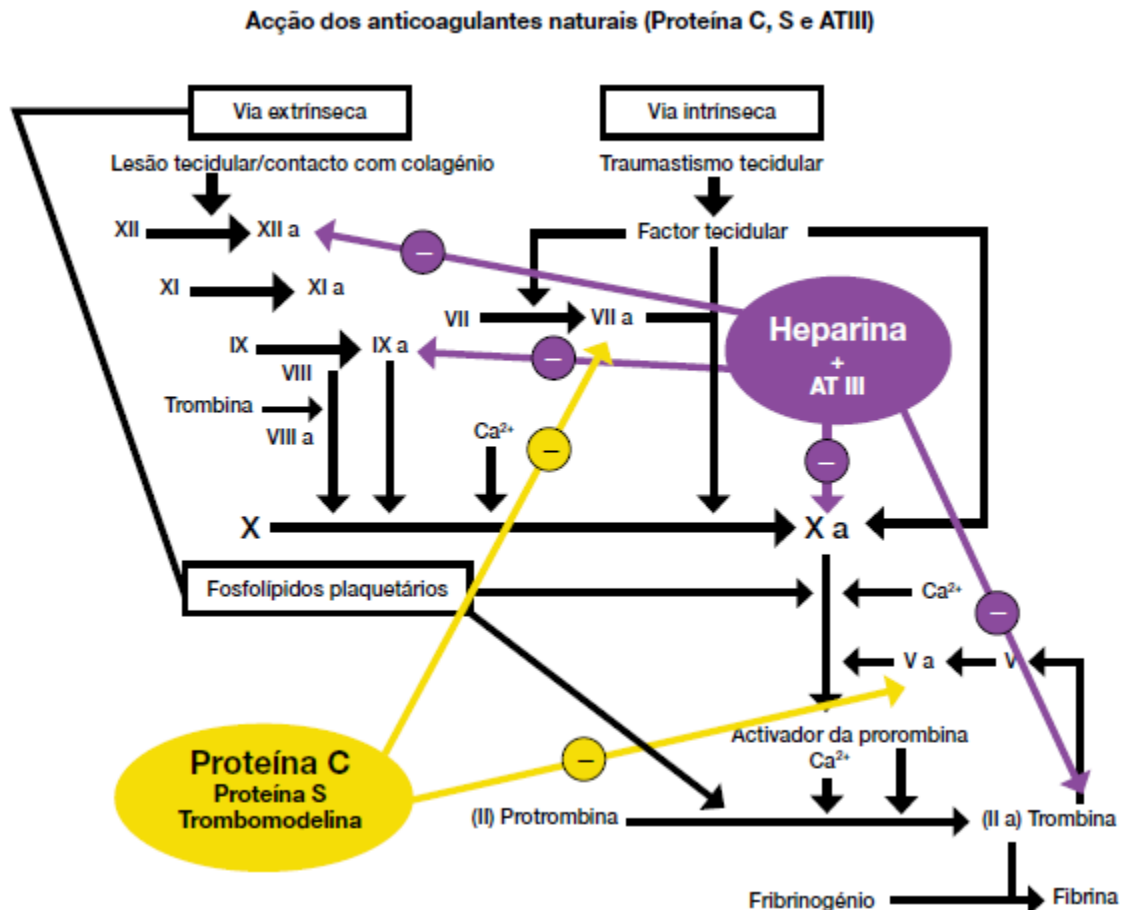
Cascata de Coagulação

A via intrínseca de coagulação é iniciada no momento em que ocorre um dano ao tecido sanguíneo ou este entra em contato com o colágeno presente no endotélio que recebeu o trauma, provocando uma alteração fisiológica do fluxo de sangue no local. Esta via é ativada pelo fator de Hageman (fator XII). Já a via extrínseca é ativada no momento em que a tromboplastina (fator III) aciona o fator VII. A associação desses fatores favorece a ativação do Fator X. Esse fenômeno ocorre em circunstâncias de lesão na parede vascular ou dos tecidos adjuntos, destruição celular e do contato dos elementos expostos do endotélio com o tecido sanguíneo¹⁵.

A união das vias intrínseca e extrínseca de coagulação aciona o Fator X, tornando-se uma única via que se finaliza com síntese de trombina a partir da protombina. Esta última, é responsável pela transformação do fibrinogênio em fibrina, conforme está descrito na figura 1. A fibrina é convertida em um polímero que estabiliza o coágulo. Sendo assim, o coágulo é a combinação de várias plaquetas emaranhadas com fibrina, plasma e células sanguíneas. No momento em que a coagulação é ativada, esta fica restringida ao local da lesão devido a ação de dois mecanismos necessários para que a coagulação não afete toda a árvore vascular. O primeiro mecanismo é a liberação da prostaciclina do endotélio, responsável por impedir mais plaquetas de se aderirem, limitando o tampão plaquetário. O segundo mecanismo ocorre pelo bloqueio da cascata de coagulação

através da proteína C ativada e pela antitrombina, que inibem a síntese de fibrina¹⁵. A Figura 1 apresenta todos os eventos ocorridos na cascata da coagulação sanguínea.

Figura 1 – Cascata de Coagulação Sanguínea.



Fonte: Silva, et al (2010)²¹.

Fase Fibrinolítica

Na fase fibrinolítica, o plasminogênio é convertido em plasmina. Esta substância é responsável pela degradação da fibrina existente no coágulo. Esse sistema retira os trombos de fibrina que não são necessários conservando a hemostasia¹⁵.

Diagnósticos Laboratoriais

Diante de dúvidas sobre a clínica da trombofilia hereditária deve-se solicitar exames e ensaios genéticos. Na investigação deste distúrbio, é importante ter cautela na solicitação e na análise dos diagnósticos laboratoriais. É de suma importância estar informado sobre que tipo de medicamento que está sendo utilizado pelo indivíduo antes da análise diagnóstica, visto que a heparina, a terapia com hormônios, contraceptivos e anticoagulantes orais podem ocasionar interferências nos resultados. Em contrapartida, caso o exame seja feito no período da gravidez ou em um evento agudo trombótico, pode influenciar nas modificações

dos princípios da hemostasia. Desta forma, o diagnóstico laboratorial terá que ser constatado posteriormente a regulação da hemostasia, ou seja, seis semanas após o parto ou na ausência de medicamentos estrogênicos ou anticoagulantes⁵.

Dosagem de Antitrombina (AT)

A antitrombina (AT), também denominada como antitrombina III, é sintetizada no fígado, sendo um bloqueador primário da trombina, que por sua vez exerce um processo de inibição em várias enzimas do coagulo sanguíneo¹⁶. A trombina tem a finalidade de direcionar a conversão do fibrinogênio em fibrina; impulsionar o fator XIII, que é encarregado pela junção da fibrina e a contenção do coágulo; induz a agregação de plaquetas, por meio de receptores da proteína G, estimula a produção endotelial de fatores pró-trombóticos e aumenta a propagação do tecido muscular liso nos locais lesionados¹⁷.

A insuficiência de antitrombina tornou-se anomalia genética primária, relacionada a trombose familiar. Pesquisas mostram que a herança da deficiência familiar de antitrombina é habitualmente, autossômico dominante, acometendo tanto o sexo masculino como o sexo feminino¹⁶.

No momento em que a heparina é produzida a ação da antitrombina é ampliada 1.000X. A medição para ação funcional é de 75% a 125%. Na prática funcional realiza-se uma técnica de determinação do tempo de protombina (TAP) ou método cromogênio. São considerados resultados insatisfatórios em casos de amostras coaguladas, o preenchimento não completo dos tubos necessários para o método, destruição dos glóbulos vermelhos, amostras com icterícias e lipemia. Também pode prejudicar o resultado da antitrombina a utilização de inibidores da trombina, tais como uso recente de medicamentos trombóticos¹⁸.

Dosagem de Proteína C e Proteína S

Estudos realizados para investigar os fatores que são dependentes de vitamina K em 1976 por Stenflo, descreveram sobre a PC ativada, e, em 1981, relataram sua deficiência. A causa da deficiência da PC é uma mutação no gene responsável por sua síntese, localizado no cromossomo 2q14-21, de caráter autossômico dominante. Sua insuficiência é caracterizada por dois tipos, sendo o tipo I, decorrente da redução da atividade e da quantidade de proteína C, e, o tipo II, onde somente a função da proteína C será reduzida e sua quantidade se encontra em níveis normais^{1,19}.

A determinação da dosagem dos níveis de PC é feita na hipótese de uma trombofilia hereditária, utilizando métodos funcionais ou métodos imunoeletroforéticos, em que ambos avaliam a atividade da proteína no plasma por um substrato cromogênio ou no tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) avaliando o tempo de duração da coagulação sanguínea. A avaliação da PC deve ser efetuada antes da administração de medicamentos que inibe a ação da vitamina K, que por consequência pode diminuir a atividade e a quantidade das proteínas^{1,20}.

Dependente da vitamina K, a proteína S atua como cofator da proteína C. A determinação da concentração e atividade de PS livre é realizada por métodos imunológicos, principalmente o ELISA, que usa um anticorpo monoclonal específico para PS^{1,20}.

Dosagem de homocisteína (HCT)

A HCT é uma substância proveniente da degradação da metionina, ela não é integrante da formação de proteínas no organismo e não é adquirida de forma direta pela alimentação. A enzima responsável pelo metabolismo da HCT é a metilenotetrahidrofolato redutase (MTFHR) através de remetilação que usa como cofator o folato. Mutações no gene C677T MTFHR que substitui o aminoácido valina por alanina, e inserção de 68-bp no gene cistatianina β -sintetase (CBS), reduz a atividade das enzimas sobre o metabolismo da homocisteína. O aumento de concentrações incomuns da HCT no plasma do paciente é chamado de hiper-homocisteinemia e é considerado uma condição de risco para o acometimento de TEV. A ocorrência dessa deficiência é rara e quando evidenciada é decorrente em genótipos homozigotos^{16,21}.

A hiper-homocisteinemia apresenta consequências devido seu excesso, causando risco de doenças vasculares. A homocisteína é auto-oxidada no plasma, resultando em peróxido de hidrogênio e superóxidos que causam lesão na célula endotelial, ativação dos fatores de coagulação e com isso formação de trombos¹.

A pesquisa em laboratório dos padrões sanguíneos de HCT é realizada através de dosagem da concentração desse aminoácido por método de espectrofotometria de massa no plasma do paciente. Cerca de 25% dessa concentração é equivalente a HCT interligada à cisteína ou cistina em forma de dímeros, 70% a 80% referente a porção de HCT conjugada a proteínas e 5% equivalentes HCT livre. A dosagem plasmática de HCT é feita durante o jejum do paciente, é importante lembrar que, após o exame de sobrecarga de metionina são encontradas concentrações aumentadas de HCT em muitos pacientes que em jejum apresentaram níveis séricos sem alterações²². Outros métodos alternativos são utilizados, como cromatografia de troca de íons, cromatografia a gás e imunoensaios²¹.

Dosagem e Análise Gênica do Fator V de Leiden

Na cascata de coagulação o fator V atua como cofator do fator X ativado, que faz parte da via comum, colaborando para formação de protrombina ativada (IIa) ou trombina²³. A mutação do fator V de Leiden é de característica autossômica dominante, que promove resistência da proteína C ativada (rPCA), limitando sua ação anticoagulante. A modificação genética do gene que origina o fator V de Leiden, está localizado no nucleotídeo G1691, devido a substituição de guanina por adenina, consequentemente trocando os aminoácidos arginina pela glutamina na posição 506, contribuindo para um fator V mutante⁷.

Essa mutação está presente em diversas populações, no entanto é raro em africanos e asiáticos, todavia no Brasil, devido à grande miscigenação, a frequência do fator V de Leiden pode variar de região para região, sendo sua ocorrência em torno de 2% a 13% da população²³. A manifestação dos eventos tromboticos aumenta em indivíduos heterozigotos, tendo chance de ocorrer de cinco a dez vezes, e em indivíduo homozigoto, com ocorrência entre cinquenta a cem vezes dos casos²⁴.

O fator V de Leiden pode ser diagnosticado de forma indireta através de teste laboratorial como a dosagem do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) do plasma. Para isto, é utilizado um método de ensaio modificado, onde o plasma do

paciente é diluído com plasma contendo fator V insuficiente, assim eliminando interferentes da insuficiência ou o aumento de fatores que fazem parte da cascata, o que pode modificar o valor do TTP basal, técnica indicada por expressar maior sensibilidade e especificidade²³.

A análise gênica por técnica de biologia molecular é a forma direta para o diagnóstico dessa mutação e caracteriza a forma heterozigota ou homozigota. Ela é aplicada no rastreamento da alteração do fator V em indivíduos com histórico familiar, permitindo a prevenção do desenvolvimento do eventual distúrbio. A análise é realizada por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) que amplifica o gene que produz o fator V, assim possibilitando a investigação da mutação^{23,25}.

Análise Gênica da Protombina G20210A

Designada também como fator II, a protombina é uma proteína sanguínea produzida no fígado com a existência da vitamina K. Esta proteína é precursora da trombina, que, quando chega no desfecho da cascata de coagulação, leva a formação de fibrina participando do processo do equilíbrio de coagulação. Tem função importante na estabilidade do anticoagulante pois quando a trombina se liga à trombomodulina, o mecanismo da PC é ativado. O gene da protombina abrange cerca de 21.000 pb, formados de 13 íons e 14 éxons, que se localiza adjacente ao centrômero do cromossomo²⁶.

Nos anos de 1996, foi relatada uma alteração na área 3 do gene da protombina, a variante alética protombina G20210A, que se expressa na troca da guanina pela adenina no nucleotídeo 20210 localizado próximo ao local de clivagem do precursor do RNA mensageiro (RNAm) onde a cauda poli-A é inserida. Esta mutação correlaciona-se ao aumento da estabilidade do seu RNAm e o acúmulo plasmático da protombina, o que aparenta ser uma atividade que instiga o episódio de trombose. O diagnóstico laboratorial desta alteração é mediante somente aos métodos de biologia molecular. Não é possível realizar a pesquisa da taxa de protombina, devido haver um excesso de sobreposição dentre os valores normais e os que possuem a mutação⁹.

O método aplicado por RT-PCR constitui no reconhecimento dos alelos G e A, podendo o indivíduo ser heterozigoto para um dos alelos ou homozigoto, portando um alelo de cada. O alelo A em que decorre da troca de uma guanina por uma adenina no nucleotídeo 20210 no DNA da protombina é mutante, enquanto o alelo G é não mutante. Esta mutação é de risco médio para a trombose em pessoas homozigotas e heterozigotas para alelo A, não indicando perigo em pessoas homozigotas no alelo G. Nos indivíduos da pele branca essa mutação situa-se no intervalo de um a três por cento. Ainda não foi relatado nenhum indivíduo de pele negra ou asiáticos com essa mutação, desta forma, indica-se que nesses indivíduos a mutação não ocorre frequentemente ou apresenta frequência muito rara²⁶.

Dosagem dos níveis de Fator VIII

Alguns fatores de coagulação em quantidades elevadas no plasma, pode estar relacionado ao risco de desenvolvimento de trombose, como por exemplo o fator VIII. Considerado um cofator procoagulante, o fator VIII é componente importante na via intrínseca da cascata de coagulação. O aumento dos níveis de fator VIII tem uma possível causa genética, mas segundo alguns autores, nenhuma

mutação específica no gene do FVIII foi identificada. É prevalente o desenvolvimento de trombose na população geral, acometendo cerca de 10 a 11% dos indivíduos com níveis elevados do FVIII. A recorrência do caso é cerca de 30% após dois anos de suspensão do anticoagulante^{27,28}.

Certos laboratórios, na realização de testes para o rastreio para trombofilia hereditária, realizam a dosagem dos níveis de FVIII pela análise de TTPA, método mais simples, porém durante o procedimento de coleta sanguínea ou armazenamento, o sistema de coagulação pode ser ativado, gerando o aumento de casos falsos positivos. Devido a isso, a dosagem do fator VIII é aplicado em outras técnicas, como na medição do antígeno do FVIII pelo método de ELISA, é um teste demorado, porém não altera a sensibilidade na ativação da coagulação²⁸.

Profilaxia do TEV nas Trombofilias Hereditárias

Embora haja poucas informações sobre a profilaxia, os pacientes devem ser avaliados individualmente com base no risco de eventos tromboembólicos. Recomenda-se a prevenção com o uso de anticoagulante em indivíduos que portam mutações genéticas relacionadas a trombofilia hereditária. Para isso, são necessários dados sobre o risco de trombose nos portadores da doença para que as medidas de profilaxia sejam adotadas, avaliando os riscos e benefícios do procedimento. As tabelas 1 e 2, a seguir, apresentam sugestões de profilaxia de TEV em portadores de trombofilias hereditárias assintomáticos e sintomáticos¹⁶.

Tabela 1 - Profilaxia de TEV em portadores assintomáticos de trombofilia hereditária

Tipo de Trombofilia Hereditária	Cirurgia Imobilização Trauma	Gestação	Puerpério	Contraceptivo oral e TRH
<i>Deficiência de AT, PC ou PS</i>	Heparina ou anti-VK por 2-4 semanas	Acompanhamento clínico sem profilaxia anticoagulante	Heparina ou anti-VK por 4-6 semanas	Desaconselhar uso. Aconselhamento sobre métodos contraceptivos alternativos
<i>Fator V de Leiden FII G 20210A</i>	Profilaxia de rotina (heparina ou anti-VK)	Acompanhamento clínico sem profilaxia anticoagulante	Heparina ou anti-VK por 4-6 semanas	Aconselhamento sobre métodos contraceptivos alternativos
<i>Hiper-homocisteinemia</i>	Profilaxia de rotina (heparina ou anti-VK)	Acompanhamento clínico sem profilaxia anticoagulante	Sem profilaxia com anticoagulante	Conduta não estabelecida

Fonte: Franco (2001)¹⁶.

Tabela 2 - Profilaxia de TEV em portadores sintomáticos (episódio prévio de TEV) de trombofilia hereditária

Tipo de Trombofilia Hereditária	Cirurgia Imobilização Trauma	Gestação	Puerpério	Contraceptivo oral e TRH
<i>Deficiência de</i>	Heparina ou anti-	Profilaxia com	Heparina ou	Desaconselhar

<i>AT, PC ou PS</i>	VK por 2-4 semanas	heparina durante toda a gestação	anti-VK por 4-6 semanas	uso. Aconselhamento sobre outros métodos contraceptivos
<i>Fator V de Leiden FII G 20210A</i>	Profilaxia de rotina (heparina ou anti-VK)	Profilaxia com heparina durante toda a gestação	Heparina ou anti-VK por 4-6 semanas	Desaconselhar uso. Aconselhamento sobre outros métodos contraceptivos
<i>Hiper-homocisteinemia</i>	Profilaxia de rotina (heparina ou anti-VK)	Conduta não estabelecida	Conduta não estabelecida	Desaconselhar uso. Aconselhamento sobre outros métodos contraceptivos

Fonte: Franco (2001)¹⁶.

Tratamento do TEV em Pacientes com Trombofilia Hereditária

A terapêutica da ocorrência aguda da TEV em indivíduos com trombofilia hereditária não é diferente do tratamento que se recomenda para episódios de TEV em pacientes que não portam a doença. Posteriormente ao diagnóstico do episódio trombótico, é necessário atribuir o tratamento com heparina, mantida no mínimo durante cinco dias, e o antivitamínico-K (anticoagulante oral), iniciado nas primeiras vinte quatro horas. A maioria dos pacientes com deficiência em antitrombina apresentam resposta quando submetidos ao tratamento com heparina, porém podem ser administradas doses maiores, quando for necessário aumentar o TTPA¹⁶. A tabela 3, a seguir, apresenta o período padrão para o tratamento de paciente com TEV portadores de trombofilia hereditária¹⁶.

Tabela 3 - Tratamento do TEV em pacientes com trombofilia hereditária.

Deficiências de AT, PC OS, Fator V de Leiden, FII G20210A	
<i>Risco</i>	<i>Tratamento</i>
Baixo (Desencadeado por fator de risco reversível)	Heparina 5-10 dias Anti-VK 6 meses
Intermediário (TEV espontâneo)	Heparina 5-10 dias Anti-VK 6-12 meses
Alto (recorrência, neoplasia, defeitos em homozigose, combinação de defeitos hereditários)	Heparina 5-10 dias Anti-VK perene
Primeiro episódio	Heparina 5-10 dias Anti-VK 6 meses Suplementação Vitamínica
Recorrência	Heparina 5-10 dias Anti-VK 12 meses a indefinidamente Suplementação Vitamínica

Fonte: Franco (2001)¹⁶.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os principais métodos de diagnóstico laboratorial da trombofilia hereditária são, as dosagens de antitrombina, proteína C, proteína S, homocisteína, níveis do fator VIII, dosagem e análise gênica do fator V de Leiden e análise gênica da protombina G20210A. O objetivo desses métodos consiste em identificar os fatores que favorecem o desenvolvimento do distúrbio de coagulação. No entanto, é necessária cautela na coleta de dados do paciente, principalmente em relação à utilização de medicamentos, pois podem interferir nos resultados dos testes, como é o caso da heparina, terapia com hormônios, contraceptivos e anticoagulantes orais.

Não há muitas informações sobre a profilaxia de TEV em pacientes com trombofilia hereditária, sendo, no entanto, recomendável avaliar os riscos desses eventos em cada caso. O tratamento recomendado é uso de heparina e antivitamínico-K, no entanto, é indispensável a identificação da causa dos eventos tromboembólicos para que seja possível adotar uma estratégia de tratamento adequada e precaver o reaparecimento desses eventos.

REFERÊNCIAS

1. Hatwig B. Diagnóstico laboratorial das trombofilias hereditárias: uma revisão [trabalho de conclusão de curso]. Ijuí (RS): Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUI; 2016.
2. Lima J, Borges A. Rastreio de trombofilias. Bol SPHM. 2012; 27(4): 5-11.
3. Santos VRL. Fatores de risco associados a eventos tromboembólicos e o papel do contraceptivo hormonal [trabalho de conclusão de curso]. Aracaju (SE): Universidade Federal de Sergipe; 2017.
4. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster JC. Robbins e Cotran, bases patológicas das doença. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.
5. Filho EAF, Oliveira VM, Coelho LR, Breda I. Marcadores séricos de trombofilias hereditárias e anticorpos antifosfolípides em gestantes com antecedentes de pré-eclâmpsia grave. Rev Bras Ginecol Obstet. 2012; 34(1): 40-6.
6. ABCMED, 2017. Trombofilia: tendência a formar coágulos. Disponível em: <<http://twixar.me/8x1T>>. Acesso em: 1 mai 2019.
7. Marques MA, Silveira PRM, Ristow AV, Gress M, Vescovi A, Massière B, et al. Pesquisa de marcadores de trombofilia em eventos trombóticos arteriais e venosos: registro de 6 anos de investigação. J Vasc Bras. 2009; 8(3): 225-231.
8. Sequeira AI, Branco M, Teles A, Costa M, Sousa B, Ramalho H. Trombose venosa profunda em idade pediátrica – estudo retrospectivo de 10 anos. Nasc Cresc. 2016; 25(3): 147-53.

9. Ramos CPS, Campos JF, Santos ME, Melo FCBC, Neves WB, Araújo FA, Melo RAM. Protombina mutante em indivíduos sob investigação de trombofilia. *J Bras Patol Med Lab*. 2008; 44(2): 79-82.
10. Merriman L, Greaves M. Testing for thrombophilia: an evidence-based approach. *Postgrad Med J*. 2006; 82(973): 699-704. doi: 10.1136/pgmj.2006.048090.
11. Cirne JCF. Contraceptivos orais e risco trombótico [dissertação]. Porto (PT): Universidade do Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar; 2014.
12. Rezende ACC, Negócio HF, Lucena MM, Leitão VOF, Sousa MNA. Riscos da utilização de contraceptivos orais. *J Med Heal Prom*. 2017; 2(1): 468-480.
13. World Health Organization. Medical eligibility criteria for contraceptive use. 5ª ed. Geneva: World Health Organization; 2015.
14. Silva ACMD. Importância do estudo de trombofilias hereditárias no acompanhamento clínico de doentes com tromboembolismo venoso e seus familiares assintomáticos: revisão bibliográfica e caso clínico [dissertação]. Lisboa (PT): Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa; 2015.
15. Souza APG, Cavalcante FD, Silva ESC, Santana SF, Peixoto MOB, Peixoto FB. Manejo Odontológico de Pacientes em Terapia Antitrombótica. *Rev Bah Odont*. 2016;7(4):262-271.
16. Franco RF. Trombofilias hereditárias. *Med (Ribeirão Preto)*. 2001; 34(3/4): 248-257.
17. Blaya C, Prati C, Boneti C, Bonamigo DR, Krumenauer RCP, Rosito GA. Análise da Utilização dos Novos Inibidores da Trombina na Prática Médica. *Arq Bras Cardiol*. 1998; 71(2): 163-7.
18. Williamson MA, Snyder ML. Interpretação de exames laboratoriais. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018.
19. Pinto NR, Errante PR. Deficiência congênita da proteína C: Relato de caso. *At Ciênc Saúd*. 2017; 5(1): 15-22.
20. Ravel R. Laboratório clínico: Aplicações clínicas dos dados laboratoriais. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.
21. Silva AS, Brazão ML, Granito S, Escórcio S, Jardim M, Silva S, et al. Distúrbios pró-trombóticos/Trombofilias. *Rev Soc Port Med Int*. 2010; 17(1): 49-64.
22. Vilaça CO, Freitas MRG, Nascimento OJM, Orsini M, Leite MAA, Souza JA. Metabolismo da homocisteína em doenças neurológicas. *Rev Bras Neurol*. 2015; 51(3): 73-8.

23. Araújo MSE. Trombose- fator V de Leiden. In: Conic-Semesp; 14° Congresso Nacional de Iniciação Científica. 28-29 nov 2014; São Paulo: Universidade Cidade de São Paulo, 2014.
24. Michel CA, Rocha JB, Costa DC, Lima CA, Batschauer APB. Prevalence of factor V Leiden in patients with venous thrombosis. J Bras Patol Med Lab. 2016; 52(4): 227-232. doi: 10.5935/1676-2444.20160038.
25. Filho ABO, Campos JF, Lima MBPLV, Melo FCBC, Neves WB, Melo RAM, et al. Discriminação alélica do fator V da coagulação por PCR em tempo real: diagnóstico simples e preciso. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009; 31(1): 25-28.
26. Herkenhoff ME, Gaulke R, Souza JG, Thomé NS, Pitlvanciv AK, Remualdo VR. Análise da mutação G20210A no gene da protombina (fator II) em pacientes com suspeita de trombofilia no sul do Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2012; 48(2): 85-89.
27. Mota F, Gonçalves LR, Mansilha A. Rastreio de trombofilia hereditária no contexto de trombose venosa profunda. Ang Cirur Vasc. 2011; 7(3): 126-137.
28. Costa C, Alves M, Durão D, Leal M, Monteiro I. Excesso de fator VIII em doente com síndrome coronária aguda. Rev Port Cardiol. 2014; 33(3): 181.e1-181.e4.