

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO
CEARÁ/HEMOCE
Trabalho de Conclusão de Curso

Fortaleza - CE
1998

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
DO CEARÁ/HEMOCE
Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia

**PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE
INIBIDOR DO FATOR VIII:C EM
PACIENTES PORTADORES DE
HEMOFILIA "A"**

Sandra Síbele Leite Vieira de Figueirêdo

Trabalho de monografia apresentado no Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia do Ceará como requisito para obtenção do título de Especialista em Hematologia e Hemoterapia.

Orientadora:

Dr^a Rosângela de Albuquerque Ribeiro Rodrigues Holanda

**PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE INIBIDOR
DO FATOR VIII:C EM PACIENTES
PORTADORES DE HEMOFILIA “A”**

Sandra Síbele Leite Vieira De Figueiredo

Trabalho de monografia apresentado no Curso de
Especialização em Hematologia e Hemoterapia
do Ceará como requisito para obtenção do título
de Especialista em Hematologia e Hemoterapia.

Data: 20/2/98

Dr^a Rosângela de Albuquerque Ribeiro Rodrigues Holanda
(Orientadora)

Aprovado por:

Dr. Gentil Claudino de Galiza Neto
(Co-orientador)

Dr^a Francisca Vânia Barreto Aguiar Ferreira Gomes
Divisão de Ensino e Pesquisa

Agradecimentos

- Ao *Dr. José Murilo Martins*, pelo espírito academicista.
- À *Dr^a Rosângela de Albuquerque Ribeiro*, pela orientação deste trabalho.
- Ao *Dr. Gentil Claudino de Galiza Neto*, pela efetiva participação e orientação técnica neste trabalho.
- À *Dr^a Francisca Vânia Barreto Aguiar Ferreira Gomes*, pelo empenho na realização deste trabalho.
- À *Dr^a Elsie Sobreira Kubrusly*, pela participação na elaboração do projeto de pesquisa.
- Ao *Dr. Ormando Rodrigues Campos*, pela compra dos materiais necessários para a realização deste trabalho.

- Aos funcionários do Setor de Quimioterapia, *Mary Lilian, Maria Eliziete, Maria Cleide e Maria Teresa*, pelo apoio e ajuda durante a coleta das amostras.
- A *Francisca Moreira Lima*, pela organização do laboratório de coagulação.
- A *Célia e Viviane*, pela organização do curso.
- A todos os professores do Curso de Especialização, pelo apoio e incentivo.
- Aos funcionários do **HEMOCE**.
- Aos amigos conquistados durante o Curso, pela companhia tão saudável e valiosa, e, especialmente, a *Sônia da Silva Amorim e Jean Lima Prazeres*, pela grande ajuda na realização deste trabalho.

Agradecimentos Especiais

- Aos *meus pais*, pelo apoio que sempre me deram.
- Ao meu marido *Flávio* e à minha filha *Ana Flávia*, que compreenderam minha ausência durante todo o ano de 1997.
- À minha irmã *Cláudia Figueirêdo*, pela grande ajuda na finalização desta monografia.

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
INTRODUÇÃO.....	11
MATERIAL E MÉTODOS.....	16
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÃO.....	31
SUMMARY.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXOS.....	35

LISTA DOS GRÁFICOS

- 1- *Distribuição das 32 idades dos indivíduos participantes da amostra*21
- 2- *Faixa etária e inibidor VIII:C*.....27

LISTA DAS TABELAS

1-	<i>Distribuição das idades de 32 indivíduos deste estudo.....</i>	20
2-	<i>Grau de hemofilia nos 32 indivíduos.....</i>	21
3-	<i>Faixa etária por grau de hemofilia.....</i>	22
4-	<i>Pesquisa de inibidor para os 32 indivíduos.....</i>	22
5-	<i>Quantificação do inibidor.....</i>	23
6-	<i>Grau de hemofilia e pesquisa de inibidor.....</i>	23
7-	<i>Pesquisa de inibidor VIII:C por quantificação do inibidor.....</i>	24
8-	<i>Quantificação do inibidor e sua classificação.....</i>	25
9-	<i>Faixa etária por inibidor VIII:C.....</i>	25

RESUMO

Foi realizada a pesquisa e quantificação do inibidor do fator **VIII:C** em 32 pacientes portadores de Hemofilia **A**, cadastrados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE. Em 25 pacientes (78,1%) não foi detectada a presença do inibidor do fator **VIII:C** e em 07 pacientes (21,9%) foi observada a presença do inibidor, sendo que 02 pacientes (6,2%) apresentaram inibidor de baixo título (< 5 UB) e 05 pacientes (15,6%) apresentaram inibidor de alto título (5 UB). A incidência do inibidor foi mais elevada entre os pacientes portadores de hemofilia **A** grave.

INTRODUÇÃO

A hemofilia é um distúrbio hereditário que se origina de uma deficiência hematológica congênita, transmitida através do cromossomo sexual **X**, caracterizada pela diminuição da atividade coagulante do fator **VIII:C** (hemofilia **A**) ou do fator **IX** (hemofilia **B**), que são proteínas que participam da cascata da coagulação sangüínea (anexo 1). A hemofilia está presente em todos os grupos étnicos e em todas as regiões geográficas do mundo⁽¹⁰⁾.

Três categorias de gravidade podem ser distinguidas:

- a) deficiência severa (nível de fator **VIII:C** ou **IX** < 01%);
- b) deficiência moderada (nível de fator entre 01-05%);
- c) deficiência branda ou leve (nível de fator entre 05-25%)^(13,4,14).

Embora existam contradições, a maioria dos estudos epidemiológicos relata que a prevalência das hemofilias está em torno de 1:10000 nascidos do sexo masculino, sendo a hemofilia **A** responsável por 85% dos casos^(6,13). A complicação mais comum da hemofilia é o sangramento, o qual pode acontecer espontaneamente ou após algum tipo de traumatismo.

Sangramentos repetidos, se não forem tratados, podem causar graves danos a músculos e articulações. Quando nas articulações, determinam hemartroses que

levam a conseqüências graves que, ao longo dos anos ocasionam a perda da função articular (artropatia hemofílica), gerando vários graus de incapacidade física. As hemorragias em órgãos vitais, como o cérebro, podem seguir um curso fatal, se não forem tratadas de imediato. Hematúrias e hemorragias bucais também são comuns^(13,14).

A hemofilia “A” caracteriza-se por uma deficiência da atividade coagulante do fator **VIII (VIII:C)** no plasma. O Fator **VIII** apresenta, aliada a sua atividade coagulante, uma capacidade antigênica própria (**VIII:Ag**), capaz de estimular a síntese de anticorpos específicos que inativam o gen responsável pela codificação do fator **VIII**, o qual se encontra localizado no braço longo do cromossomos X e é formado por 186.000 pares de bases^(9,4).

Várias pesquisas fizeram supor, durante muito tempo, que o fígado fosse o órgão responsável pela produção do fator **VIII**. Entretanto, estudos mais recentes verificaram que a insuficiência hepática grave não estava associada à deficiência desse fator. Outras hipóteses foram, então, sugeridas, entre elas, a de que, provavelmente, algum tipo celular presente em vários órgãos seria a fonte principal de fator **VIII**. Entre os possíveis produtores estariam os fibroblastos, linfócitos, monócitos, macrófagos e células endoteliais. No entanto, experiências com culturas de tecidos contendo estas células, não foram capazes de demonstrar a produção desta proteína. Estudos imunohistoquímicos sugeriram a síntese de fator **VIII** por células endoteliais dos sinusóides hepáticos, células mononucleares não linfóides do baço, pulmões e linfonodos^(6,13).

Atualmente o tratamento do paciente portador de hemofilia baseia-se na terapêutica de reposição e na participação de grupos de trabalhos multidisciplinar, compostos, além do hematologista e hemoterapeuta, pelos fisiatras, ortopedistas, odontólogos, psicólogos, infectólogos, assistentes sociais, enfermeiros e outros. Um ponto fundamental da terapêutica hemofílica é o início precoce dos tratamentos. O tratamento de reposição da hemofilia “A” consiste na administração endovenosa de produtos hemoterápicos destinados à correção da deficiência do fator **VIII:C**, sendo os mais utilizados os concentrados de fator **VIII** e, na falta destes, os crioprecipitados. Os concentrados de fator **VIII** industriais são purificados e comportam uma grande concentração de fator **VIII** em pequeno volume (10 a 20ml). Existem preparações que variam de 200 UI até 1000 UI por frasco e constituem os produtos de escolha da terapêutica. O crioprecipitado possui entre 50 a 100 UI de fator **VIII** por unidade e pode ser preparado a partir de unidades individuais de sangue ou através de pequenos “pools”. Concentrados de fator **VIII** obtidos por engenharia genética experimentalmente constituirão, sem qualquer dúvida, a terapêutica ideal no futuro próximo^(10,15).

As complicações do tratamento de reposição na hemofilia “A” geralmente estão representadas por hiperfibrinogenemia (uso de crioprecipitados); transmissão dos vírus da imunodeficiência humana e hepatites “B” e “C”, além de reações imunitárias envolvendo o fator **VIII**, entre elas a formação de anticorpos da classe IgE, os quais podem determinar reações anafiláticas importantes e potencialmente fatais, como também, a formação de anticorpos de classe IgG contra proteínas

encontradas nos produtos que contêm fator **VIII**. Estes anticorpos, denominados inibidores do fator **VIII**, são capazes de neutralizar o fator administrado terapêuticamente, reduzindo sua atividade^(10,20). Os anticorpos da classe IgG parecem ser específicos para a subunidade coagulante da molécula do fator **VIII (VIII:C)**^(13,9).

A incidência de inibidores vem aumentando à medida que cada vez mais utilizam produtos purificados, sugerindo que esse aumento esteja relacionado com o processo de industrialização⁽⁶⁾. Em geral, os anticorpos surgem na infância, mas a sua presença deve ser constantemente considerada durante a vida do paciente hemofílico. O inibidor não precisa estar associado a nenhuma alteração óbvia na gravidade clínica da doença, e, por conseguinte, são necessários testes específicos para detecção destes inibidores, antes da realização de procedimentos que exigem reposição de fator **VIII**.

O tratamento de hemofílicos “**A**” com inibidor na vigência de sangramento é problemático. A maioria depende do título do inibidor que costuma ser expresso em unidades “*Bethesda*”. O método *Bethesda* é considerado pela Federação Mundial de Hemofilia, o melhor método para quantificação de inibidores do fator **VIII:C**, por utilizar como fonte de fator o plasma normal. Uma unidade *Bethesda*, por definição, inibe 01 unidade de fator **VIII**, isto é, o fator **VIII** de 01 ml de plasma⁽⁷⁾.

O paciente que recebe concentrado de fator **VIII** pode apresentar uma resposta imune anamnésica, com aumento no título e na avidéz do inibidor⁽¹⁴⁾. O desenvolvimento do inibidor ocorre principalmente em hemofilia grave, sendo

interpretado como resposta imune ao tratamento com o fator **VIII**, o qual seria reconhecido como uma proteína heteróloga⁽¹⁹⁾. Deve-se classificar o inibidor quanto ao título e resposta à infusão do fator **VIII**. Considere-se alto título aquele com mais de 5 U *Bethesda* de inibidor e baixo título aquele com valor igual ou inferior a 5 U *Bethesda*⁽³⁾. A resposta ou efeito rebote é verificado cerca de 07 a 14 dias após o estímulo antigênico e, quanto atinge níveis superiores a 02 a 03 vezes o valor da dosagem inicial, considera-se alta resposta. Existem na literatura diversos protocolos de conduta para tratamento de hemofílicos “**A**”, com inibidor na vigência de sangramento, baseados nos conceitos acima referidos. Um dos protocolos mais aceitos determina que pacientes com inibidor de baixo título sejam tratados com altas doses de fator **VIII** ou imunoglobulina endovenosa e pacientes com inibidor de alto título ou de baixo título e alta resposta sejam tratados com complexo protrombínico ativado (**FEIBA**) ou fator **VIII** porcino ou plasmáfêrese terapêutica^(11,15,20).

O nosso trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de inibidor do fator **VIII:C** em pacientes portadores de hemofilia tipo “**A**”, residente em Fortaleza e cadastrados no Hemoce.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo foi examinado o plasma de 32 pacientes portadores de hemofilia tipo "A", residentes na cidade de Fortaleza e cadastrados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE, entre julho e novembro de 1997, obedecendo a um protocolo (anexo 2) previamente estabelecido contendo dados do paciente, diagnóstico, gravidade da hemofilia, número de vezes em que foi submetido a transfusões com hemocomponentes e/ou derivados, data da última transfusão, resposta à terapêutica empregada e resultados do estudo. Como critério de inclusão neste estudo, o paciente não poderia ter sido transfundido com fator VIII até quinze dias anteriores à coleta do sangue.

Na entrevista, esclarecemos aos pacientes ou responsáveis, no caso de menores, sobre os objetivos da pesquisa, obtendo permissão verbal para sua realização.

Para realizar a pesquisa de inibidor, nos baseamos no princípio de que este é tempo e temperatura dependentes. O **TTPA** do paciente que apresenta inibidor não corrige quando misturado(1:1) a um "pool" de plasmas normais. O **TTPA** incubado por 2h a 37°C da mistura deve estar prolongado acima de 04 segundos do **TTPA** do plasma controle⁽³⁾.

Para quantificação dos inibidores optamos por seguir o método *Bethesda*.

A pesquisa de inibidor do fator **VIII:C** consiste na incubação do plasma teste com “*pool*” de plasmas normais a 37°C durante 2 horas. Após o período de incubação é feito o teste de **TTPA** (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado), utilizando a seguinte técnica:

- Misturar: 1 volume do plasma teste com 1 volume de pool de plasmas normais;
- Incubar a 37°C por duas horas, tanto a mistura quanto o pool de plasmas normais puro;
- Após esse período, realizar o teste **TTPA**.

Os nossos resultados foram interpretados da seguinte forma: Relação dos Tempos do **TTPA** (mistura/pool normal): **Normal** = deficiência de fator **VIII**; **Prolongada** = presença de inibidor.

Para realização do **TTPA** utilizamos: *Kit APTT-LS-Platelin SL/Organon Teknika*, seguindo a técnica descrita pelo fabricante. Utilizamos o aparelho Coagulômetro **ST₄** da marca “*Stago*”.

No plasma de pacientes cuja pesquisa de inibidor apresentou resultado positivo, foi efetuada a quantificação destes inibidores do fator **VIII:C** são quantificados através da mistura do plasma teste com igual volume de um pool de plasmas normais. Após 2 horas de incubação, é determinada a atividade do fator residual do fator **VIII:C** residual, ou seja, que não foi neutralizado pelo inibidor específico.

Por definição, uma unidade *Bethesda* inibe 50% da atividade do fator **VIII:C** presente.

Materials e reagentes:

- Tubo de vidro 12x75 mm;
- Banho-maria a 37°C;
- Coagulômetro;
- Pool de plasmas normais obtido de 10 doadores de sangue;
- Factor **VIII** Deficient Plasma (Human)/Bacter Diagnostics;
- Solution Tampom / Type Owren-Koller / Diagnostica Stago;
- Cloreto de cálcio 0,025 M preparado no HEMOCE;
- APTT - LS / Platelin LS / Organon Teknika.

Procedimentos:

- Diluir o plasma teste 1:2 e 1:4 com tampão Owren;
- Diluir o pool de plasmas normais 1:2 com o mesmo tampão;
- Fazer as misturas (1:1): Plasma teste puro + pool de plasmas normais puro;
- Plasma teste (1:2) + pool de plasmas normais puro;
- Plasma teste (1:4) + pool de plasmas normais puro;
- Incubar tudo por 2 horas a 37° C;
- Determinar o fator **VIII:C** de cada mistura.

Obs: *Para determinação dos fatores, é necessário a execução da curva referência com o pool de plasmas normais utilizado na mistura (anexo 3).*

- **Cálculo do fator residual:**

$$\text{Atividade do fator residual(\%)} = \frac{\text{Ativ. do fator de cada uma das misturas}}{\text{Ativ. do fator do pool de plasmas normais 1:2}}$$

Para utilizar a tabela de unidades de *Bethesda*, deve-se considerar a primeira diluição que contenha atividade residual igual ou maior que 25%.

Encontrada a unidade correspondente à atividade residual, deve-se multiplicá-la pela diluição do plasma teste.

TABELA DE UNIDADES BETHESDA

Atividade Residual (%)	Inibidor Unidade (Bethesda)	Atividade Residual (%)	Inibidor Unidade (Bethesda)	Atividade Residual (%)	Inibidor Unidade (Bethesda)
97	0,05	61	0,70	40	1,35
93	0,10	59	0,75	38	1,40
90	0,15	57	0,80	37	1,45
87	0,20	55	0,85	35	1,50
84	0,25	53	0,90	34	1,55
81	0,30	51	0,95	33	1,60
78	0,35	50	1,00	32	1,65
75	0,40	48	1,05	30	1,70
73	0,45	46	1,10	29	1,75
70	0,50	45	1,15	28	1,80
68	0,55	43	1,20	27	1,85
66	0,60	42	1,25	26	1,90
64	0,65	41	1,30	25	2,00

RESULTADOS

Os resultados desta pesquisa se basearam em uma amostra de 32 pessoas do sexo masculino portadores de hemofilia, os quais serão apresentados com a utilização da estatística descritiva dos valores observados na amostra através de gráficos e tabelas e estatística inferencial com o uso dos testes de hipótese Qui-Quadrado, Qui-Quadrado com correção de continuidade. Esclarecemos que, quando em um teste Qui-Quadrado, a frequência esperada em alguma das casas da Tabela é menor que 1, então, a aplicação deste teste é inadequada e neste caso utiliza-se o Teste Exato de Fischer. Aplicou-se, também, o conceito de Risco relativo e de Intervalo de Confiança para o risco relativo.

A distribuição das idades destes indivíduos está apresentado na Tabela 1, onde considerou-se a categoria criança indivíduos com idade menor ou igual a 12 anos e classificamos como adulto aqueles com idade acima de 12 anos.

Tabela 1: *Distribuição das idades de 32 indivíduos deste estudo*

Indivíduos	Freq.	%
Crianças	10	31,2
Adultos	22	68,8
TOTAL	32	100,0

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

Os dados da tabela 1 estão apresentados no gráfico 1.

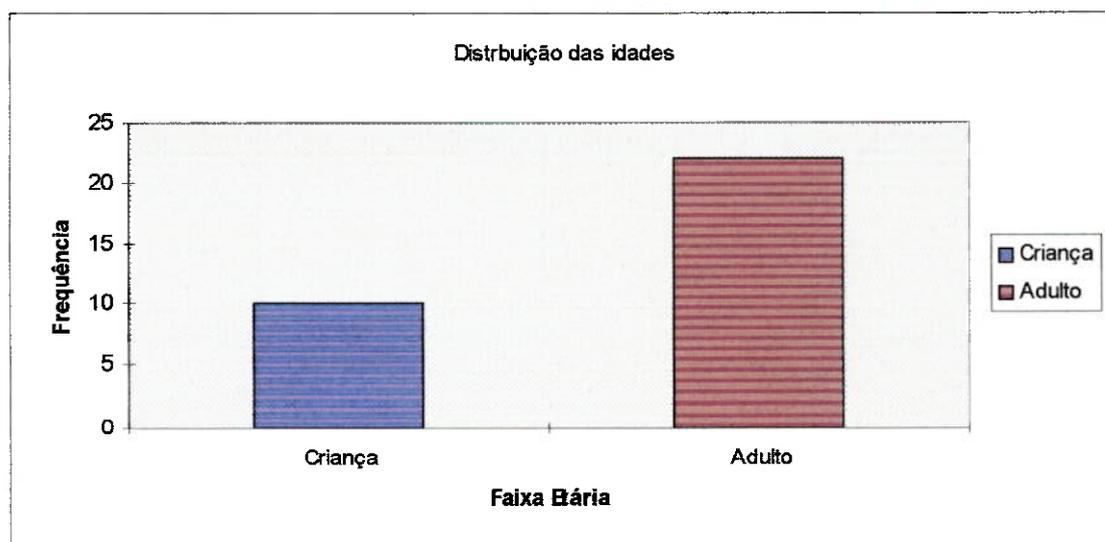


Gráfico 1: *Distribuição das 32 idades dos indivíduos participantes da amostra.*

Com respeito ao grau da hemofilia, os 32 indivíduos mostraram os seguintes resultados apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: *Grau da hemofilia nos 32 indivíduos.*

Grau da hemofilia	Freq.	%
Leve	11	34,4
Moderada	11	34,4
Grave	10	31,3
TOTAL	32	100,0

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

Podemos perceber na Tabela 2 que a mostra é homogênea com respeito a classificação do grau de hemofilia, uma vez que premia a participação da hemofilia Leve, Moderada e Grave em proporções quase iguais. Podemos ver na Tabela 3 a distribuição do grau da hemofilia por faixa etária, conforme apresentamos a seguir:

Tabela 3: *Faixa etária por grau de hemofilia*

Faixa Etária	Grau da Hemofilia			Total
	Leve	Moderada	Grave	
Criança	6	3	1	10
Adulto	5	8	9	22
Total	11	11	10	32

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

Conforme os resultados da Tabela 3, podemos determinar que em crianças, observou-se que 60% da hemofilia é Leve, 30% Moderada e 10% Grave. Na faixa etária adulta, 22,7% ($=5 \times 100 / 22$) possui hemofilia leve, 36,4% hemofilia Moderada e 40,9% tem grau grave.

A pesquisa de inibidor está mostrada na Tabela 4.

Tabela 4: *Pesquisa de inibidor para os 32 indivíduos*

Inibidor	Freq.	%
Negativo	25	78,1
Positivo	7	21,9
Total	32	100,0

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

Conforme a Tabela 4, podemos perceber que 78,1% das 32 pessoas apresentam resultado negativo quanto à presença do inibidor VIII:C, enquanto que 21,9% apresentam resultado positivo.

Para a quantificação do inibidor (em UB), observou-se os seguintes resultados, apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: *Quantificação do inibidor*

Quant. Inib. (UB)	Freq.	%
Zero	25	78,1
Dois	1	3,1
Quatro	1	3,1
Acima de 8	5	15,6
TOTAL	32	100,0

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

De acordo com a tabela 5, 78,1% dos indivíduos não apresentam inibidor do fator **VIII:C**; 6,2% dos indivíduos apresentam inibidor de baixo título (< 5 UB) e 15,8% dos indivíduos apresentam inibidor de alto título (> 8 UB).

Um aspecto importante é avaliar a distribuição do grau de hemofilia por pesquisa de inibidor. Os dados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: *Grau de hemofilia e pesquisa de inibidor.*

Grau de Hemofilia	Pesquisa de inibidor		Total
	Negativo	Positivo	
Leve	10	1	11
Moderada	9	2	11
Grave	6	4	10
Total	25	7	32

Fonte: dados desta pesquisa, 1988.

A Tabela 6 mostra que dos 11 casos de hemofilia Leve, 90,9% não apresentam o inibidor, **VIII:C** de forma análoga, 81,8% dos casos de hemofilia Moderada não apresentam o inibidor **VIII:C** e dos 10 casos de hemofilia grave, 60% não apresentam o inibidor **VIII:C**. O teste Qui-Quadrado de Pearson apresentou um valor 3,06 com valor **P** igual a 0,216 não acusa diferença significativa entre a presença do inibidor e o grau da hemofilia. No entanto, este

teste não é confiável para estes dados, uma vez que o número de casos com frequência esperada abaixo de 5 é de 50%, enquanto deveria ser no máximo 20%. Podemos observar que a incidência do inibidor do fator **VIII:C** é de 40% nas hemofilias graves, na moderada 18,2% e na leve igual a 9,1%.

Apresentamos, a seguir, a Tabela 7 que contém os valores da pesquisa do inibidor **VIII:C** por quantificação do inibidor.

Tabela 7: Pesquisa de inibidor **VIII:C** por quantificação do inibidor

Presença do Inibidor VIII:C	Classificação do inibidor			Total
	Ausente	Baixo Título	Alto Título	
Negativo	25	0	0	25
Positivo	0	2	5	7
Total	25	2	5	32

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

Neste caso, o teste Qui-Quadrado fica prejudicado por haver frequências nulas em algumas casas da Tabela 6, mesmo assim, seu valor é 32,0 com valor $P = 0,00001$. Há uma associação significativa entre presença do inibidor e a classificação do inibidor, fato este atribuído a uma dependência forte entre estas duas variáveis.

Percebe-se, de forma análoga, uma associação significativa entre a presença do inibidor **VIII:C** e a classificação do inibidor, ou seja, estas duas variáveis estão muito relacionadas pela natureza de sua própria construção.

Há também uma associação significativa entre a classificação do inibidor e sua quantificação. Os dados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: *Quantificação do inibidor e sua classificação.*

Quantificação do Inibidor VIII:C	Classificação do inibidor VIII:C			Total
	Ausente	Baixo Título	Alto Título	
Ausente	25	0	0	25
Dois UB	0	1	0	1
Quatro UB	0	1	0	1
> 8 UB	0	0	5	5
Total	25	2	5	32

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

A associação direta entre as duas variáveis da Tabela 8 é esclarecida com o teste Qui-Quadrado, bastante prejudicado em sua interpretação, em face da frequência esperada mínima igual a 0,063 e com 91,7% das casas da tabela 8 com frequência esperada $< 5,0$. Podemos afirmar que, pela própria construção, entre as duas variáveis temos uma dependência perfeita, pois a classificação do inibidor é uma consequência de sua quantificação, portanto, não precisamos nos apoiar no teste Qui-Quadrado para detectar a associação perfeita entre classificação e quantificação do inibidor VIII:C.

Podemos investigar como é a associação entre a faixa etária e o inibidor VIII:C. Os resultados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: *Faixa etária por inibidor VIII:C*

Faixa Etária	Inibidor VIII:C		Total
	Negativo	Positivo	
Criança	9	1	10
Adulto	16	6	22
Total	25	7	32

Fonte: Dados desta pesquisa, 1998.

O teste Exato de Fischer, para a Tabela 9, foi realizado e apresentou um valor **P** igual a 0,378. O teste Qui-Quadrado, com correção de continuidade, menos indicado para este conjunto de freqüências observadas, também foi realizado apresentando uma estatística de teste igual a 0,40 com valor **P** = **0,525**. Ambos testes mostram resultado não significativo. Portanto, nada se pode inferir sobre a incidência positiva ou negativa do inibidor **VIII:C** em crianças ou adultos. Podemos afirmar que a incidência do inibidor ocorre em 10% das crianças deste estudo e a incidência do inibidor nos adultos foi igual a 27,3%. O gráfico 2 mostra os resultados da Tabela 9. Estas diferenças podem ser atribuídas ao fato de que a participação dos adultos na amostra foi de aproximadamente duas vezes maior que a de crianças. É confiável acreditar, baseado no teste estatístico, que as diferenças observadas na incidência do inibidor **VIII:C** são pouco prováveis de ocorrerem e, portanto, em uma amostra maior este fato de não significância da incidência do inibidor em crianças e adultos ocorreria também de forma não significativa. Estamos inferindo baseado no método estatístico que não há diferença significativa entre adultos e crianças com respeito a presença do inibidor **VIII:C**.

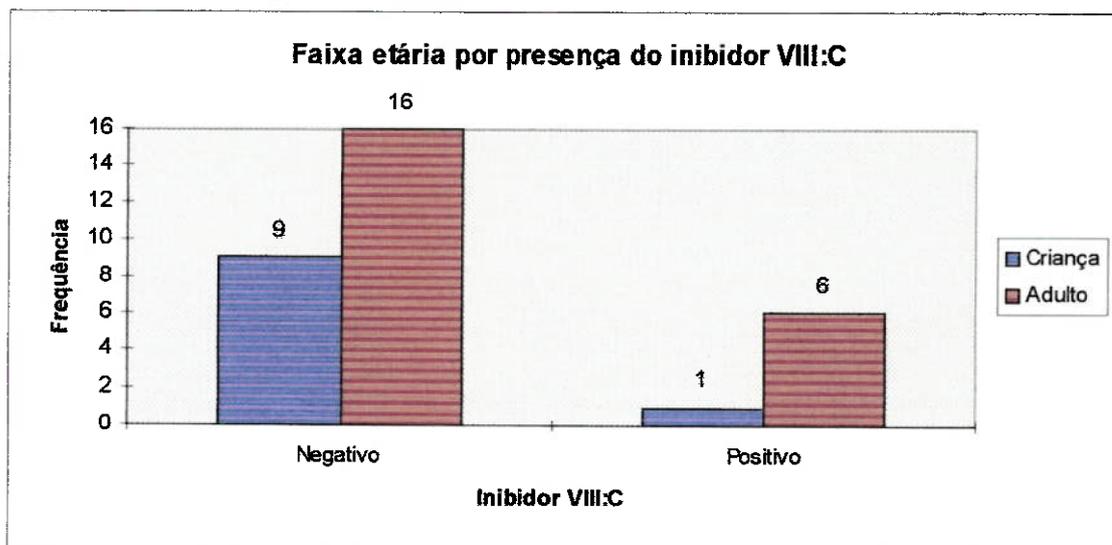


Gráfico 2: *Faixa etária e Inibidor VIII:C.*

O teste exato de Fischer nega a associação entre adultos e crianças se diferenciarem com respeito a presença do inibidor **VIII:C**. Observando o gráfico 2, somos levados a acreditar na diferença da incidência dos dois grupos. Uma medida objetiva que reforça as diferenças é o risco relativo. Para os dados da tabela 9, o risco relativo de que uma criança não apresente o inibidor **VIII:C** é igual a $(9 \times 6) / (1 \times 16) = 3,375$. Ou seja, há aproximadamente 3 vezes mais chance de uma criança não ter o inibidor do que um adulto. No entanto, um intervalo com 95% de confiança para este risco apresenta os valores de 0,34 a 32,6. Este intervalo, ora tem um valor abaixo de 1 (0,34) ou bastante acima de 1 (32,6). Portanto, este risco ora afirma mais chances para adultos (<1), e ora afirma mais chances para crianças (>1). Então, o gráfico em seu visual, pode estar nos induzindo a um equívoco e, portanto, é mais confiável aceitar o resultado do teste de Fischer. Uma outra sugestão é aumentar o tamanho da amostra para poder inferirmos com uma chance de erro menor sobre este fato.

DISCUSSÃO

O fator anti-hemofílico (**FHA**) ou proteína coagulante do fator **VIII** é uma proteína grande (265 Kda), de cadeia simples, que regula a ativação do fator **X** por proteases produzidas na via intrínseca da coagulação. O fator **VIII** circula na forma de complexo com a proteína de von Willebrand (**FUW**). Um, em cada 10.000 indivíduos do sexo masculino, nasce com deficiência ou disfunção da molécula do fator **VIII**. O distúrbio resultante dessa disfunção é conhecido como **Hemofilia A**, o qual se caracteriza, principalmente, por sangramentos nos tecidos moles, nos músculos e nas articulações⁽¹⁹⁾.

Após terapêutica de reposição, os pacientes portadores de hemofilia **A** podem desenvolver inibidores do fator **VIII:C**. Em geral, estes inibidores consistem em anticorpos IgG que neutralizam rapidamente a atividade do fator **VIII:C** e impedem a realização de uma terapia transfusional eficaz⁽⁸⁾. Raramente, estes anticorpos são representados por imunoglobulinas IgM ou IgA⁽¹⁷⁾.

O diagnóstico da presença do inibidor do fator **VIII:C** é confirmado quando o **TTPA** do paciente não corrige pela mistura com plasma controle e a taxa de fator **VIII** está diminuída ou ausente (<1%)^(7,3).

Além da hemofilia **A**, o inibidor do fator **VIII** pode, também, aparecer em patologias auto-imunes, como o lupus eritematoso sistêmico, em poliartrite reumatóide, na psoríase, dermatite herpétiforme, hemopatias malignas (linfomas, mielomas, leucemias) e no curso de tratamento por antibioticoterapia, sulfamidas, fenitoínas ou fenilbutazona⁽¹⁷⁾.

A incidência de inibidor do fator **VIII:C** é maior nos pacientes tratados com fator **VIII** de baixa pureza e menor com o uso de fator **VIII** monoclonal purificado^(15,13).

O inibidor do fator **VIII:C** é mais freqüentemente encontrado em hemofilia grave (nível de fator **VIII**<1%) já que o sistema imunológico reconhece o fator exógeno como estranho^(13,14,16).

O aparecimento de inibidor do fator **IX** na hemofilia **B** é muito raro^(2,13).

No nosso trabalho, pesquisamos 32 plasmas de pacientes portadores de hemofilia **A**, cadastrados no HEMOCE. Nos plasmas cuja pesquisa apresentou resultado positivo foi realizada a quantificação do inibidor. Do total de 32 pacientes, 31,2% foram classificados como crianças (<12 anos) e 68,8% foram enquadrados na categoria adulto (>12 anos). Quanto ao grau de hemofilia 34,4% dos pacientes eram portadores de hemofilia leve, 34,4% de hemofilia moderada e 31,3% de hemofilia grave. 78,1% dos 32 pacientes apresentaram resultado negativo quanto à presença do inibidor do fator **VIII:C**, enquanto que 21,9% apresentaram resultado positivo, sendo que 2 pacientes (6,2%) apresentaram inibidor de baixo título (<5UB) e 15,8% dos indivíduos apresentaram inibidor de alto título (>8UB).

A incidência do inibidor do fator **VIII:C** foi de 40% nos pacientes com hemofilia grave, 18,2% nas hemofilias moderadas e 9,1% nos pacientes com hemofilia leve. A incidência ocorreu em 10% das crianças e em 27,3% dos adultos do nosso estudo.

Verificamos que nossos resultados foram condizentes com os achados descritos em Roberts H.R.⁽¹⁶⁾ e com os relatos de Alerdot, L.⁽¹⁾, os quais demonstraram a incidência do inibidor do fator **VIII:C** entre hemofilias tipo **A**, variando de 20 a 30%.

No entanto, nossos achados foram contrários aos relatos de Lee, G.R.⁽¹³⁾, Shapiro, S.S.⁽¹⁸⁾ e Clerck, J.M.⁽¹⁵⁾, autores que relataram incidência de inibidor do fator **VIII:C** em hemofilia **A** no máximo em 10 a 15% dos pacientes estudados.

Em relação ao aparecimento de inibidor e grau de hemofilia, nossos achados estão condizentes com os de Shapiro, S.S.⁽¹⁸⁾ e Lee, G.R.⁽¹³⁾, que também encontraram maior incidência de inibidor entre os portadores de hemofilia grave.

Em relação à idade, os nossos estudos mostraram maior incidência de inibidores entre os adultos, discordando dos estudos de Shapiro, S.S.⁽¹⁸⁾, cujo estudo revelou incidência maior entre crianças.

CONCLUSÃO

Estudando 32 pacientes portadores de hemofilia **A**, quanto à presença do inibidor do fator **VIII:C**, constatamos que a incidência foi de 21,9%, sendo mais freqüente entre os portadores de hemofilia severa.

SUMMARY

Thirty two (32) patients with hemophilia **A** from the Ceará's Center of Hematology and Hemotherapy (HEMOCE) were studied as to the research and quantification of the eight factor's inhibitor. It was not detected the presence of the mentioned inhibitor in twenty-five (78,1%) of the studied patients. The inhibitor was detected in seven patients (21,9%); two of them (6,2%) demonstrated low titles of the inhibitor (< 5U *Bethesda*) and five (15,6%) had high titles (>5U *Bethesda*). The inhibitor incidence was higher among patients with severe hemophilia **A**.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ALEDORT, L. Inhibitors to Coagulation: Can we Afford Immune Tolerance Induction Regimens? *Vox Sang.* Suppl. 1. Germany. vol. 70. p. 77-78. 1996.
- 2- BERNTORP, E.; NILSSON, I. Immune Tolerance and the Immune Modulation Protocol. *Vox Sang.* Suppl. 1. Germany. v. 70. p. 36-41. 1996.
- 3- CARRERAS, O. et al. Pruebas Diagnósticas del Inhibidor de "Tipo Lúpico". In: *Manual de Hemostasia y Trombosis* (Grupo GLAHT), 2 ed. Argentina: Grupo CLAHT, 1990. p. 352-59.
- 4- CASTILLO, R.; MARAGALL, S.; MONTEAGUDO, J. Hipocoagulabilidades congênitas. Hemofilia, enfermidade de von Willebrand y procesos afines. In: Sans-Sabragen, J. *Hematologia Clínica*. 3 ed. Barcelona: Mosby. 1995. p. 499-514.
- 5- CLERC, J.M. Coagulation disorders. In: Rodak, B.F. *Diagnostic Hematology*. 1ª ed. EUA: W.B. Saunders Company. 1995. p. 511-47.
- 6- DE LA REZA, D. et al. Hemofilia "A" grave com reação adversa ao fator VIII da coagulação. *Revista do Instituto Estadual de Hematologia*. Rio de Janeiro. v. 14. 1/2. p. 58-61. 1997.
- 7- ELGUE, G.; KORDICH, L. Deteccion de Inhibidores del Factor VIII:C en Hemofilia A (Unidades Bethesda). In: *Manual de Hemostasia y Trombosis* (Grupo CLAHT). 2 ed. Argentina: Grupo CLAHT. 1990. p. 221-23.
- 8- FORBES, C. Clinical Aspects of the Genetic Disorders of Coagulation. In: Ratnoff, O.; Forbes, C. *Disorders of Hemostases*. 3 ed. EUA: W.B. Saunders Company. 1996. p. 138-73.
- 9- GITLONDON, E.; GHAREM, N.; GOOSSENS, M. *Les bases moléculaires de l'hemophilia A: possibilités actuelles du diagnostic et du conseil génétique*. *Hematologie*. n. 1. Paris. vol. 2. p. 2-7. 1996.

- 10- HAMERCHLAK, N. et al. Tratamento da Hemofilia. *In: __. Manual de Hemostasia e Trombosis* (grupo CLAHT). 2 ed. Argentina: Grupo CLAHT, 1990. p. 65-70.
- 11- HAY, C; LAURIAN, Y. Induction of Tolerance Using Porcine Factor VIII. *Vox Sang.* Suppl. 1. Germany. v. 70. p. 68-69. 1996.
- 12- KREUZ, W. et al. Epidemiology of Inhibitors in Haemophilia A. *Vox Sang.* Suppl. 1. Germany. v. 70. p. 2-8. 1996.
- 13- LEE, G.R. et al. Distúrbios hereditários da coagulação. *In: Bithell, T.C. Wintrobe - Hematologia Clínica.* 9 ed. São Paulo: Manole, 1998. p. 1562-1567.
- 14- MOSHER, D.F. Distúrbios da coagulação sangüínea. *In: Bennet, J.C.; Plum, S. Cecil-Tratado de Medicina Interna.* 20 ed. São Paulo: Guanabara Koogan. v. 1. 1996. p. 1091-98.
- 15- NÉGRIER, C. *Le Traitement de l'hémophilie: des dérivés du plasma à la thérapie Génique. Hématologie.* n. 1. Paris. vol. 2. p. 17-27. 1996.
- 16- ROBERTS, H. R.; HOFFMAN, M. Hemophilia and related conditions - inherited deficiencies of prothrombin (factor II), factor V, and factores VII to XII. *In: Beutler, E. et al. Williams Hematology.* 5 ed. EUA: McGraw-Hill. 1995. p. 1414-436.
- 17- SAMPOL, J.; ARNOUX, D.; BOUTIERE, B. Inhibiteurs Specifiques de Facteurs de la Coagulation (en dehors de l'hémophilie). *In: Aurousseau, M.H. Manual D'Hemostase.* 1 ed. Paris. 1995. p. 379-80.
- 18- SHAPIRO, S; RAJAGOPLAN, V. Hemorrhagic Disorders Associated with Circulating Inhibitors. *In: Ratnoff, O.; Forbes, C. Disorders of Hemostasis.* 3 ed. EUA: W.B.Saunders Company. 1996. p. 208-19.
- 19- VERRASTRO, T. Coagulopatias. *In: Verrasho, T.; Lorenzi, T.; Wendel, S. Hematologia e Hemoterapia.* 1 ed. São Paulo: Atheneu. 1996. Cap. 21. p. 211-24.
- 20- WHITE, G.; ROBERTS, H. The Treatment of Factor VIII Inhibitors - A General Overview. *Vox Sang.* Suppl. 1. Germany. v. 70. p. 19-23. 1996.

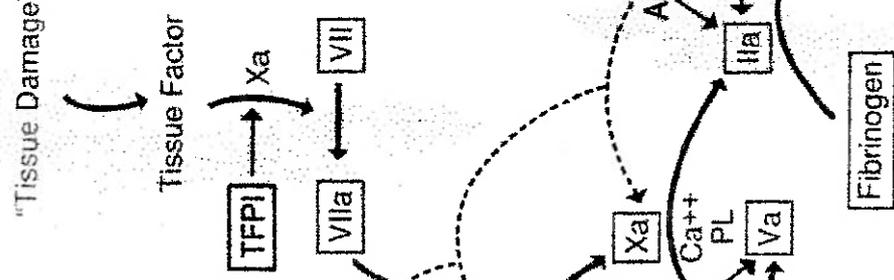
ANEXOS

Protein Concentrations

Component	Molecular Weight	Plasma Concentration µg/ml	Plasma Concentration µM
Fibrinogen (I)	330,000	3000	9.09
Prothrombin (II)	72,000	100	1.388
Factor V	330,000	10	0.03
Factor VII	50,000	0.5	0.01
Factor VIII	330,000	0.1	0.0003
Factor IX	55,000	5	0.06628
Factor X	58,800	8	0.13605
Factor XI	160,000	5	0.031
Factor XII	80,000	30	0.375
Factor XIII	320,000	10	0.03125
Protein C	62,000	4	0.0845
Protein S	69,000	4	0.1449
Protein Z	62,000	2.2	0.0355
Prekallikrein	86,000	50	0.5814
HK	110,000	70	0.6363
Fibrinectin	450,000	300	0.6667
Antithrombin III	58,000	290	5
Plasminogen	90,000	216	2.4
Urokinase	53,000	0.1	0.001887
Heparin Cofactor II	66,000	90	1.3636
Alpha ₂ -Antiplasmin	63,000	60	0.9524
Protein C Inhibitor	57,000	4	0.0702
Alpha ₂ -Macroglobulin	725,000	2100	2.8666

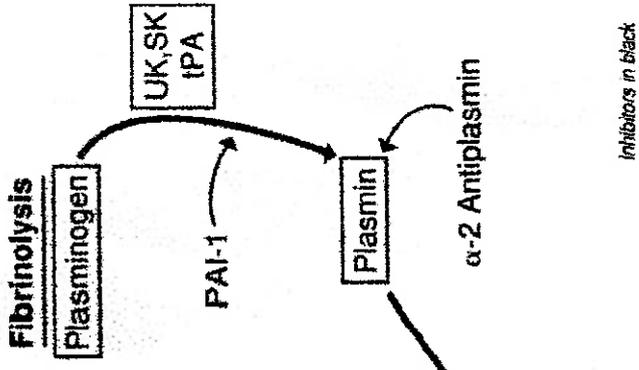
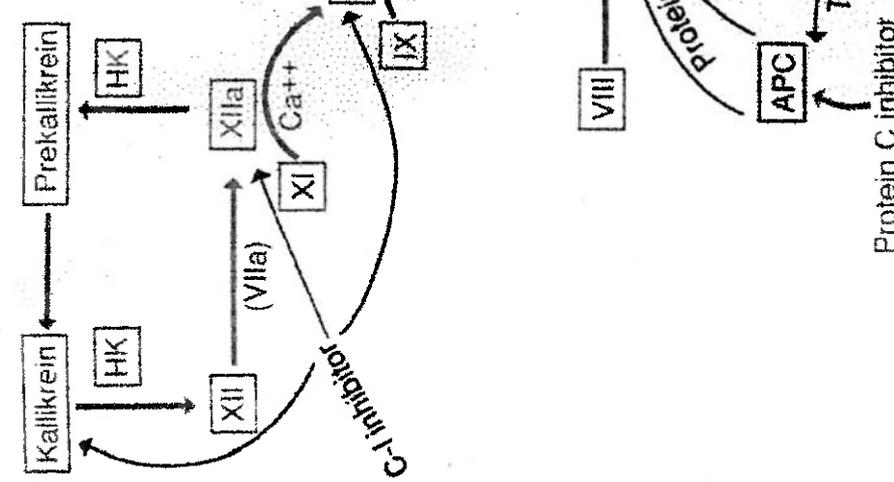
Tissue Factor Pathway (Extrinsic Pathway)

"Tissue Damage"



Contact Factor Pathway (Intrinsic Pathway)

C-I Inhibitor



Inhibitors in black



412 South Lafayette
 South Bend, IN U.S.A. 46601
 Phone: (219) 288-4377 • 800-729-5270
 Fax: (219) 288-2272

PESQUISA E QUANTIFICAÇÃO DE INIBIDORES DO FATOR VIII:C EM HEMOFILIA A

PROTOCOLO DE PESQUISA

Nº PRONTUÁRIO: _____

DATA DE COLETA: _____

DADOS PESSOAIS

Nome: _____

Data de Nasc.: _____ Idade: _____

Est. Civil: _____ Profissão: _____

Naturalidade: _____ Identidade/CPF: _____

Filiação: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ UF: _____

DIAGNÓSTICO: _____

Grau: () leve () moderado () grave

Já fez tratamento com:

() Fator VIII () Crioprecipitado () Plasma fresco

Nº de vezes em que foi submetido a transfusões com hemocomponentes e/ou hemoderivados: _____

Data da última transfusão: _____

Resposta à terapêutica empregada: _____

() Boa () Regular () Nenhuma resposta

RESULTADOS

Pesquisa de inibidor do Fator VIII:C () Positivo () Negativo

Quantificação do inibidor em unidades Bethesda: _____

CONCLUSÃO: _____

