

Hemofilia: uma breve revisão bibliográfica

Hemophilia: a brief review of the literature

Hemofilia: breve revisión bibliográfica

DOI:10.34119/bjhrv7n4-150

Submitted: Jun 21st, 2024

Approved: Jul 12th, 2024

Mariana Gonçalves Marcheze

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: marianamarcheze75@gmail.com

Lucas Junior Ventura

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: lucasjunior26ventura@gmail.com

Júlia Camilo Cassiano

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: juliacamilo497@gmail.com

Camilly Teles Moreira

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: camilly_teles@outlook.com

Pablo Madson Oliveira Freitas

Graduando em Biomedicina

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: pablomadson07@gmail.com

Joyce Nascimento Santos

Mestre em Engenharia Biomédica

Instituição: Universidade Anhembí Morumbi

Endereço: São José dos Campos, São Paulo, Brasil

E-mail: santosnjoyce@gmail.com

RESUMO

O sangue é produzido na medula óssea dos ossos chatos, vértebras, costelas, quadril, crânio e esterno e possui diversos componentes, como plasma, leucócitos, hemácias e plaquetas. Através

do sangue, são transportadas para todo o corpo substâncias necessárias para a sobrevivência, como proteínas e enzimas. Quando essas funções são, de alguma forma, interrompidas ou prejudicadas de maneira recorrente, é assim estabelecida uma doença hemodinâmica. Das doenças sanguíneas catalogadas é possível citar como exemplo pouco conhecido a hemofilia. Caracterizada por ser uma doença hemorrágica, pacientes que possuem essa patologia, em sua grande maioria homens, não possuem o fator de coagulação no sangue, por esse motivo seus mecanismos ativos não conseguem, ou têm muita dificuldade, em estancar sangramentos. A hemofilia também pode ser dividida em duas classificações, na ausência do fator de coagulação VIII denomina-se como Hemofilia A, e na do fator IX como Hemofilia B. A ausência desses fatores está diretamente ligada à origem da doença no organismo, uma vez que, ela pode surgir de forma inata ou adquirida de acordo com traumas, lesões e hábitos, nas quais, as principais são: trombozes venosas e arteriais, leucemia, anemia, hemofilia, transtorno de plaquetas e doenças hemorrágicas.

Palavras-chave: sangue, doenças, hemofilia.

ABSTRACT

Blood is produced in the bone marrow of flat bones, vertebrae, ribs, hips, skull and sternum and has various components, such as plasma, leukocytes, red blood cells and platelets. Through the blood, substances necessary for survival, such as proteins and enzymes, are transported throughout the body. When these functions are in any way interrupted or repeatedly impaired, a hemodynamic disease is established. Of the blood diseases listed, a little-known example is hemophilia. Characterized as a hemorrhagic disease, patients with this condition, the vast majority of whom are men, do not have the clotting factor in their blood, which is why their active mechanisms are unable, or have great difficulty, in stopping bleeding. Hemophilia can also be divided into two classifications: the absence of clotting factor VIII is called Hemophilia A, and the absence of factor IX is called Hemophilia B. The absence of these factors is directly linked to the origin of the disease in the body, since it can arise innately or be acquired through trauma, injuries and habits, the main ones being venous and arterial thrombosis, leukemia, anemia, hemophilia, platelet disorders and hemorrhagic diseases.

Keywords: blood, diseases, hemophilia.

RESUMEN

La sangre se produce en la médula ósea de los huesos planos, las vértebras, las costillas, las caderas, el cráneo y el esternón y tiene diversos componentes como plasma, leucocitos, glóbulos rojos y plaquetas. A través de la sangre se transportan a todo el organismo sustancias necesarias para la supervivencia, como proteínas y enzimas. Cuando estas funciones se interrumpen o alteran de algún modo de forma recurrente, se establece una enfermedad hemodinámica. Entre las enfermedades de la sangre catalogadas, un ejemplo poco conocido es la hemofilia. Caracterizada como enfermedad hemorrágica, los pacientes que la padecen, en su gran mayoría hombres, no disponen del factor de coagulación en la sangre, por lo que sus mecanismos activos son incapaces o tienen grandes dificultades para detener las hemorragias. La hemofilia también puede dividirse en dos clasificaciones: la ausencia del factor VIII de coagulación se denomina hemofilia A, y la ausencia del factor IX se denomina hemofilia B. La ausencia de estos factores está directamente relacionada con el origen de la enfermedad en el organismo, ya que puede surgir de forma innata o adquirirse a través de traumatismos, lesiones y hábitos, siendo los principales la trombosis venosa y arterial, la leucemia, la anemia, la hemofilia, los trastornos plaquetarios y las enfermedades hemorrágicas.

Palabras clave: sangue, enfermidades, hemofilia.

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

A hemofilia é uma doença sanguínea rara, que pode ser hereditária ou adquirida - presença de autoanticorpos (OLIVEIRA A.B.T. DE, 2022). Basicamente, consiste na falta de proteínas que realizam a coagulação, devido a alterações nos genes codificantes, ou seja, quando sangram não produzem os coágulos e por isso sangram exacerbadamente (OLIVEIRA A.B.T. DE, 2022).

O histórico sobre o surgimento da hemofilia começa a ser identificado a partir do ano de 1800 com a Rainha Vitória da Inglaterra, a qual era portadora da patologia e transmitiu o gene da hemofilia aos seus descendentes reais, sendo assim, possivelmente suas duas filhas também eram portadoras, que ao se casarem com outros membros da realeza Europeia, disseminaram para mais outras três famílias reais: a russa, alemã e a espanhola e por isso ficou conhecida como a doença da Realeza (OLIVEIRA et al. 2022).

De acordo com o Ministério da Saúde, o Brasil é o quarto país em casos de hemofilia e a doença afeta mais de 12 mil brasileiros, sendo a média de uma a cada 10.000 pessoas (BRASIL, 2022). No passado, a hemofilia era uma doença fatal onde até casos ligeiros poderiam impactar na qualidade de vida das pessoas (AZEVEDO, Maria Regina Andrade, 2019).

As hemofilias são identificadas pela deficiência dos fatores VIII (Hemofilia tipo A) e IX (Hemofilia tipo B) (RODRIGUES, Andrea Bezerra. 2018). São distúrbios genéticos e hereditários que acometem quase que exclusivamente os homens, comprometendo a capacidade do corpo de coagular o sangue, tão necessária para interromper as hemorragias (CHAMORRO et al. 2020). Isso acontece quando há ausência de proteínas, substâncias que, dentre inúmeras funções, ajudam na coagulação (CHAMORRO et al. 2020).

Dentro os diversos tipos de sangramentos prolongados causados pela doença, um muito comum, são os sangramentos intracranianos, que antigamente eram a principal causa de morte entre os hemofílicos, por falta de um tratamento efetivo contra essas crises hemorrágicas (RIBEIRO et al, 2021). Ocorre em 10% dos pacientes com o distúrbio e possui uma mortalidade

de 30%, sendo a segunda maior causa de morte em pacientes hemofílicos, atrás somente do HIV (RIBEIRO et al, 2021).

1.2 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da Hemofilia pode ser obtido a partir de demasiadas maneiras, todavia é válido evidenciar que, principalmente, o histórico familiar onde é relatado episódios de sangramentos espontâneos e deficiências hemostáticas caracteriza-se como a suspeita inicial para o diagnóstico (Martinez Sanches, L. M, 2018).

Além disso, outras abordagens também são fundamentais para construção do laudo tal como histórico clínico abrangente, semiologia dos sangramentos, exame físico e como essencial fator, o teste laboratorial (Martinez Sanches, L. M, 2018).

Nas últimas décadas ganhou-se notoriedade na avaliação pré-natal a investigação diagnóstica em famílias que possuem histórico de distúrbios de coagulação a partir de amostras de vilosidades coriônicas ou líquido amniótico, e no pós-parto, utiliza-se uma amostra de sangue do cordão umbilical para fins laboratoriais (Martinez Sanches, L. M, 2018).

O teste laboratorial é resumido quanto a quantidade de uma determinada substância presente nos tecidos intrínseca no processo de coagulação sanguínea, denominada como tromboplastina, e seu exame como TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativada) (Martinez Sanches, L. M, 2018). Instaura-se como padrão, três classificações que determinam o grau da patologia mediante a atividade coagulante no sangue e a quantidade de TTPA, são elas; leve (< 1% - 1 UI/dL), moderada (1-5% - 1-5 UI/dL.) e grave (5-40% - 5-40 UI/dL) (Martinez Sanches, L. M, 2018).

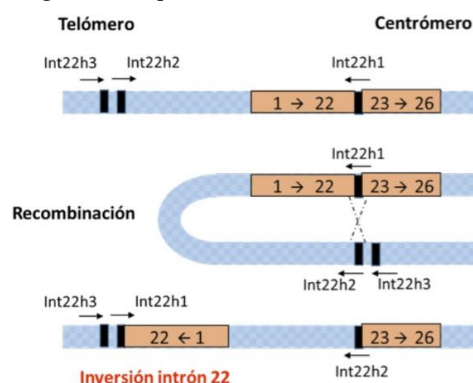
O diagnóstico molecular permite conhecer a mutação exata presente numa família afetada, essas mutações estão localizadas em todo gene F8 (VÁZQUEZ, 2017). Na hemofilia A grave, a determinação da inversão do íntron 22 é o primeiro passo no estudo das mutações, pois é encontrado em quase 50% dos pacientes (VÁZQUEZ, 2017). No restante dos pacientes, os segmentos são amplificados de DNA por PCR para identificar a presença de uma possível alteração de um nucleotídeo e identificar uma sequência anormal, comparando a mutação caracterizada com aquelas descritas em base de dados internacionais (VÁZQUEZ, 2017).

Após clonagem e caracterização do gene FVIII, houve avanços importantes na caracterização molecular de defeitos que causam hemofilia com a identificação de muitas anomalias genéticas, mostrando que sua base molecular é extremamente diversa (VÁZQUEZ,

2017). As alterações identificadas incluem mutações pontuais, deleções, inserções, rearranjos e inversões (VÁZQUEZ, 2017).

Rearranjos e reversões são raros, com exceção de duas inversões presentes em pacientes com hemofilia A grave, inversão do íntron 1 e íntron 22 (Figura 1), que representa aproximadamente 20% do total de casos (40-55% dos casos graves) (VÁZQUEZ, 2017). Os restantes 80% dos casos são devidos, sobretudo todas, para apontar mutações que consistem na substituição de um nucleotídeo e deleções ou inserções de uma ou algumas bases, distribuídas por todo gene (VÁZQUEZ, 2017). As deleções e inserções grandes são menos comuns (<5%) e geralmente causam hemofilia grave (VÁZQUEZ, 2017).

Figura 1- Esquema de inversão do íntron 22

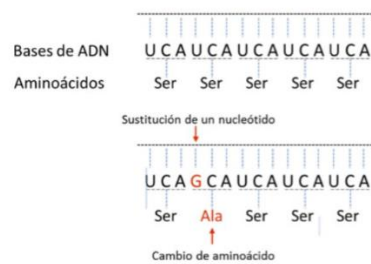


Fonte: VÁZQUEZ (2017).

Grandes deleções no gene F8 são arbitrariamente definidas como deleções de mais de 50bp em tamanho e pode variar até a exclusão completa do gene (VÁZQUEZ, 2017). A maioria das exclusões descritas abrangem vários quilobases, mas os pontos de quebra e de emenda foram caracterizados em apenas alguns casos (VÁZQUEZ, 2017). Todas as grandes deleções e inserções levam a hemofilia grave (VÁZQUEZ, 2017).

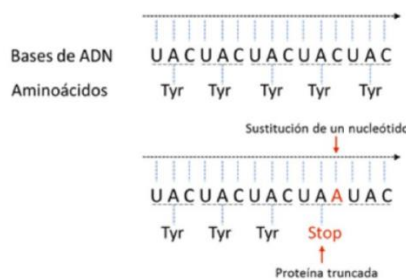
Quanto as pequenas exclusões e inserções, elas levam a alterações no padrão de leitura que resulta no aparecimento de um códon de parada prematuro, deleções ou inserções predominantes de um único nucleotídeo (VÁZQUEZ, 2017). Quando a exclusão/inserção afeta um número de pares de bases de três (ou múltiplos de três), leva a produção de uma proteína anormal, cuja funcionalidade depende da posição em que ocorre a exclusão (VÁZQUEZ, 2017).

Figura 2- Mutação de alteração de aminoácidos



Fonte: VÁZQUEZ (2017).

Figura 3- Mutação códon de parada



Fonte: VÁZQUEZ (2017).

1.3 TRATAMENTO

A hemofilia possui um tratamento complexo, pois não há cura, mas terapias podem ser realizadas nos episódios de hemorragia e para prevenir uma possível complicação (ANTUNES, 2021). Independente da gravidade da doença, o tratamento é a reposição do fator deficiente, concentrado de fator VIII no tipo A e concentrado de fator IX no tipo B, concentrados estes que podem ser produzidos de plasma de doações, derivados plasmáticos ou através de biotecnologia (ANTUNES, 2021). Utilizando como exemplo de tais medicamentos, podemos citar ADVATE e EMICIZUMABE (O autor).

ADVATE (alfaotocogue – fator VIII de coagulação recombinante) é um concentrado de fator VIII da coagulação preparado por tecnologia de DNA recombinante, utilizando-se células ovarianas de hamster chinês (TAKEDA Pharma LTDA). O complexo fator VIII/fator de von Willebrand é composto por duas moléculas (fator VIII e fator de von Willebrand com diferentes funções fisiológicas (TAKEDA Pharma LTDA). ADVATE possui o fator VIII de coagulação recombinante, uma glicoproteína com uma sequência de aminoácidos semelhante ao fator VIII humano, e com modificações pós-translacionais similares aquelas dos produtos derivados do plasma (TAKEDA Pharma LTDA). O fator VIII ativado atua como um cofator para o fator IX ativado, acelerando a conversão do fator X em fator X ativado, o fator X ativado converte protrombina em trombina (TAKEDA Pharma LTDA). A trombina, então, converte o

fibrinogênio em fibrina e um coágulo de fibrina é formado (TAKEDA Pharma LTDA). Os níveis plasmáticos do fator VIII são aumentados pela terapia de reposição, permitindo assim uma correção temporária da deficiência do fator e correção da tendência hemorrágica (TAKEDA Pharma LTDA).

Em 2023, pacientes com Hemofilia ganham mais uma opção de tratamento no SUS com a incorporação do emicizumabe, conforme publicação de portaria no Diário Oficial da União (BRASIL, 2023). O EMICIZUMABE é um anticorpo tipo imunoglobulina (Ig) G4 monoclonal humanizado com estrutura de dupla especificidade (anticorpo biespecífico), que se liga ao fator IX ativado e ao fator X (CONITEC, 2021). É produzido por tecnologia de ácido nucléico recombinante, em células de ovário de hamster chinês (CONITEC, 2021). O emicizumabe tem a capacidade de ligar o fator IX ativado ao fator X, restaurando a função deficiente do fator VIII ativado, necessária para a hemostasia (CONITEC, 2021).

O modo de ação e regulação do emicizumabe é muito diferente do fator VIII (CONITEC, 2021). Além de ser capaz de se ligar ao FIXa e FX, o emicizumabe é capaz de se ligar ao zimogênio FIXe ao FX ativado, além disso, como o anticorpo biespecífico, o emicizumabe não é regulado pelos mecanismos de ativação de inativação que regulam a atividade do fator VIII (CONITEC, 2021).

O Beriplex, concentrado de complexo protrombínico, possui os fatores de coagulação II, VII, IX e X, que são sintetizados no fígado com a ajuda da vitamina K, são comumente chamados de complexo protrombínico (CSL Behring Gmnh, 2020).

Além dos fatores de coagulação, Beriplex* P/N contém proteína C e proteína S, inibidores da coagulação dependentes da vitamina K (CSL Behring Gmnh, 2020).

O fator VII de coagulação é o zimogênio do fator VIIa serino-protease ativo, pelo qual a via extrínseca da coagulação sanguínea é iniciada (CSL Behring Gmnh, 2020). O complexo fator de tromboplastina tecidual fator-VIIa ativa os fatores de coagulação IX e X, de modo que os fatores de coagulação IXa e Xa são formados (CSL Behring Gmnh, 2020).

Atualmente, contamos com algumas opções de técnica que atuam nesta reposição para auxiliar na qualidade de vida dos pacientes portadores de hemofilia, ambos obtidos por fracionamento de pool de plasma, com diferentes métodos, que conferem características distintas aos produtos. (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018)

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este projeto teve como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre hemofilia, uma doença hereditária ou adquirida, apresentando seus aspectos clínicos e hematológicos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relatar os principais sinais e sintomas da hemofilia;
- Descrever a fisiopatologia dessa doença;
- Apresentar as dificuldades que os portadores dessa patologia enfrentam ao longo da vida;
- Relatar os principais métodos de diagnóstico;
- Apresentar os principais tratamentos e novas medidas terapêuticas em relação à hemofilia.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica, que tem como objetivo principal trazer os principais conceitos sobre o tema escolhido ditados na literatura. O ano da publicação dos artigos científicos que foram utilizados estava entre 2018 e 2023. Foram consideradas publicações e artigos condizentes com o tema abordado. As bases bibliográficas utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho foram: Ministério da Saúde, Gov.br, artigos encontrados no Google Acadêmico, Scielo, Pubmed e USP.

Como estratégia de busca foram utilizadas as palavras-chave: hemofilia, doença de coagulação, diagnóstico da doença hemofílica, aspectos clínicos da hemofilia, aspectos hematológicos, como ocorre a hemofilia, fisiopatologia da doença.

4 RESULTADOS

Abaixo tabela na qual contém uma comparação das principais características dos artigos analisados, organizados em uma ordem crescente do ano de publicação (Tabela 1).

Tabela 1 - Artigos hemofilia dos últimos três anos.

AUTOR, ANO	TÍTULO	OBJETIVOS	RESULTADOS
GURGEL et al, 2020.	Hemofilia Adquirida Tipo A: Relato de caso	Investigar as alterações laboratoriais e exame físico em uma paciente com hemofilia.	Hemofilia A adquirida é uma entidade rara de coagulopatia que ocorre de forma idiopática, secundária a diversas patologias autoimunes ou no pós-parto.
CHAMORRO et al, 2020.	Hemofilia: conheça a doença que afeta quase exclusivamente homens	Apresentar a população a doença, além de informar aos leitores sobre as medicações e tratamentos disponibilizados no SUS.	População informada referente aos medicamentos disponibilizados pelo SUS e seus novos métodos de tratamento, além de diversas iniciativas realizadas com o intuito de melhorar a qualidade de vida dos pacientes.
RIBEIRO et al, 2021.	Aspectos genéticos da hemofilia Revisão de literatura.	Realizar uma revisão na literatura e confirmar seu caráter hereditário.	Hemofilia A possui caráter recessivo, ligado ao cromossomo X, apresentando sintomas característicos
CAMELO et al, 2021.	Escore de risco cardiovascular entre adultos assintomáticos com Hemofilia.	Descrever o escore de risco de DCV de PCHs de acordo com a ferramenta <i>PCER Calculator</i> e suas recomendações de tratamento.	A prevalência de HAS e dislipidemias entre PCHs sem DCV, com 40 anos ou mais, foi significativa, portanto, metade desses pacientes apresentou um alto escore de PCER em dez anos.
DOS SANTOS et al, 2021	Aspectos clínicos e psicossociais na perspectiva de portadores da Hemofilia: uma análise sobre o processo saúde e qualidade de vida.	Estudo qualitativo, do tipo exploratório e de corte transversal, que busca identificar	A avaliação de aspectos clínicos, psicossociais e desdobramentos relativos à qualidade
OLIVEIRA et al, 2022.	Hemofilia: Fisiopatologia e diagnóstico.	Realizar uma revisão bibliográfica e analisar o assunto com visões críticas.	Doença que apesar de ser largamente estudada, ainda envolve mecanismos complexos que seguem sendo estudados, desta forma aprimorando as formas de diagnóstico e tratamento.
FRASÃO, Gustavo 2022.	Brasil tem a quarta maior população de pacientes com hemofilia do mundo.	Demonstrar as principais características da doença para a população e identificar o número de portadores dessa condição no Brasil.	De acordo com a Federação Mundial de Hemofilia, o país registra a quarta maior população de pacientes com Hemofilia do mundo, cerca de 13 mil pessoas.
YOHE, et al 2017	Review of Clinical Next-Generation Sequencing.	Familiarizar os patologistas com vários aspectos do NGS, incluindo utilizações atuais e em expansão; metodologia incluindo aspectos de bancada úmida, bioinformática e interpretação; validação e proficiência; limitações; e questões relacionadas com a integração de dados NGS em assistência ao paciente.	As aplicações clínicas do NGS irão aumentar à medida que a tecnologia, a bioinformática e os recursos evoluem para lidar com as limitações e melhoras a qualidade dos resultados.
BEZERRA et al, 2022	Relação entre adesão ao tratamento e qualidade de vida na hemofilia: revisão integrativa da literatura.	Relacionar a adesão ao tratamento com a qualidade de vida do paciente.	Os estudos demonstram que há uma relação direta entre a adesão ao tratamento e a melhora da qualidade de vida, onde elas estão relacionadas de maneira positiva.

BRASIL, Ministério da Saúde 2023	Medicamento incorporado ao SUS previne sangramentos e reduz a frequência de hemorragia em adultos e crianças com Hemofilia A.	Informar a população da incorporação de um novo medicamento ao SUS para pacientes Hemofílicos.	O medicamento previne sangraentos e reduz a frequência de hemorragias, proporcionando, assim, melhor qualidade de vida aos usuários adultos de pediátricos.
CONITEC, 2021	Protocolo de uso de emicizumabe para tratamento de indivíduos com hemofilia A e inibidores do fator VIII refratários ao tratamento de imunotolerância.	Protocolo de uso de medicação.	Protocolos de uso, farmacodinâmica, farmacocinética e recomendações.
CSL Behring GmbH, 2020	Beripex bula – CSL Behring Products.	Informações técnicas aos profissionais de saúde.	Indicações, eficácia, farmacodinâmica, farmacocinética.
TAKEDA Pharma LTDA	ADVATE Bula – Profissional de saúde	Informações técnicas aos profissionais de saúde.	Indicações, eficácia, farmacodinâmica, farmacocinética.
VÁZQUEZ, 2017	EPIDEMIOLOGÍA Y ANÁLISIS GENÉTICO DE LA HEMOFILIA A EN ANDALUCÍA	Identificação e caracterização do espectro mutacional de pacientes com hemofilia A na Andalucia e sua distribuição segundo o tipo de gravidade	116 mutações diferentes foram encontradas em 319 famílias não relacionadas com um total de 586 pacientes, detectando um alto grau de heterogeneidade.

Fonte: O autor

5 DISCUSSÃO

Ao decorrer do desenvolvimento do trabalho foram abordados assuntos como fisiopatologia, aspectos hematológicos, genótipo dos portadores da doença, aspectos clínicos, diagnósticos, planejamento reprodutivo, atendimento a pessoas com hemofilia, sintomas, indicadores de mortalidade, doenças associadas e tratamento (O autor).

A hemofilia é uma doença genética recessiva rara, ligada ao cromossomo X e, por esta razão, afeta quase que especificamente o sexo masculino (Sayago M, Lorenzo C, 2020). Esta doença genética hereditária tem por sua principal característica o retardo no tempo de coagulação do sangue, tendo como causa uma anormalidade em algum dos fatores de coagulação do sangue, que não trabalha de maneira eficiente pela deficiência dos fatores VIII (Tipo A) e IX (Tipo B) de coagulação (Sayago M, Lorenzo C, 2020). Por se tratar de uma patologia que afeta genes de herança recessiva ligada ao cromossomo X, podemos observar dois genótipos possíveis para homens - XhY(afetado) e XHY (normal) - e três para mulheres XHXH (normal); XHXh (portadora); e XhXh(afetada) (RIBEIRO et al, 2021). Dessa forma, devido ao padrão de herança, podemos observar que mulheres com a doença podem transmitir o gene com problemas para suas filhas e filhos, já homem afetado, por sua vez, pode passar o gene defeituoso apenas para sua filha (RIBEIRO et al, 2021).



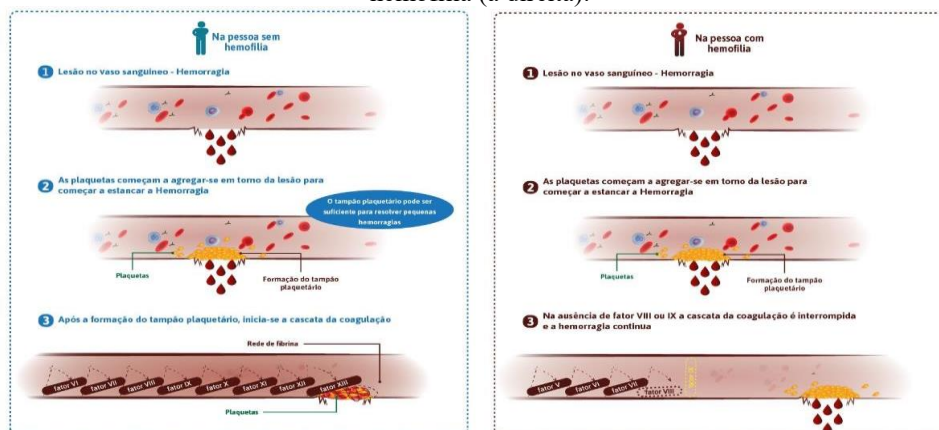
Fonte: BRASIL (2015).

Essa patologia sanguínea possui subtipos, A, B e Adquirida (Sayago M, Lorenzo C, 2020). Quando os genes que são responsáveis por codificar os fatores VIII ou IX da coagulação sofrem mudanças genéticas, a hemofilia é obtida de maneira hereditária (Sayago M, Lorenzo C, 2020). A adquirida ou *Síndrome de Rosenthal*, está relacionada a um cromossomo autossomo, tendo uma incidência rara e afetando ambos os sexos de maneira igual, principalmente a população judaica asquenazim, o gene está localizado no cromossomo 4q35 e o fator de coagulação afetado é o XI (Sayago M, Lorenzo C, 2020; RIBEIRO et al 2001).

A ocorrência estimada da hemofilia na população brasileira é de um a cada dez mil nascidos vivos homens para o Tipo A e um a cada cinquenta mil homens nascidos vivos para o Tipo B (BRASIL, 2015).

Pacientes com a hemofilia apresentam uma baixa ou total ausência de concentração do fator VIII ou IX, que é sintetizado em células hepáticas e principalmente nas células do endotélio nos vasos sanguíneos (Sayago M, Lorenzo C, 2020).

Figura 5 - Processo de coagulação sanguínea em paciente sem hemofilia (à esquerda) versus paciente com hemofilia (à direita).



Fonte: Unidos pela Hemofilia (2022)

Figura 6 - Fatores de coagulação.

Fatores da Coagulação		
Fator	Sistema	Outras Designações
I	IN	Fibrinogênio
II	E, IN	Protrombina
III	IN	Tromboplastina, suco tissular
IV	E, IN	Cálcio
V	E, IN	Proacelerina, Ac-globulina plasmática, fator lábil
VII	E	Proconvertina, fator estável, acelerador da conversão da protrombina
VIII	IN	Fator anti-hemofílico (AHF), globulina anti-hemofílica
IX	IN	Componente tromboplastínico do plasma (PTA), fator Christmas
X	E, IN	Fator Stuart-Prower
XI	IN	Antecedente tromboplastínico do plasma (PTA); fator anti-hemofílico C
XII	IN	Fator Hageman; fator vidro
XIII		Fator estabilizante da fibrina

Fonte: Collins, P. W., Fischer, K., Morfini, M., Blanchette, V. S., & Björkman, S. (2010).

Esse fator VIII é ativado pela trombina e pelo fator X, ao se juntar com o fator IX, fosfolipídios e íons de cálcio, formam um complexo, chamado de *complexo tenase*, que atua sobre o fator X, ativando o mesmo (CAGNOLATI, et al. 2017). Ao ativar o fator X, o fator auxilia na mudança de protrombina em trombina, que é a principal enzima da cascata de coagulação, cuja função é converter o fibrinogênio em fibrina, que é a responsável por formar uma camada que detém hemorragias juntamente com as plaquetas (CAGNOLATI, et al. 2017). A hemofilia do tipo Adquirida, responsável por cerca de 30% dos casos, existe a produção de anticorpos contra os fatores de coagulação, principalmente contra o fator VIII, são estes chamados de inibidores de coagulação (LORENZATO, et al. 2015).

O que determina o surgimento da doença são as alterações presentes no cromossomo X, desta forma, as mulheres são as portadoras, podendo sim expressar algumas manifestações clínicas, porém mais leves uma vez que existe a compensação do déficit pelo outro cromossomo X, mas de um modo panorâmico, são os homens que apresentam os sintomas e sinais clínicos mais intensos (LORENZATO, et al. 2015). A hemofilia do Tipo A tem cerca de 80 a 85% de prevalência e a do Tipo B cerca de 15 a 20% dos portadores deste tipo de doença (LORENZATO, et al. 2015).

O quadro clínico da Hemofilia tipo A pode ser caracterizado por sangramentos nas articulações, também chamados de hemartroses, na pele, músculos, trato gastrointestinal, SNC ou em qualquer outro lugar que sofra com algum tipo de lesão como, traumatismos, baques, quedas, extrações dentárias e cirurgias no geral (CAGNOLATI, et al. 2017). Já o quadro clínico para o tipo B pode ser identificado a partir de diferentes mutações, onde se manifestam

hemorragias, principalmente na infância, podendo apresentar um regresso na puberdade (OLIVEIRA et al. 2022).

A hemofilia adquirida surge de forma idiopática e costuma ser secundária a outras doenças autoimunes ou no pós-parto (GURGEL, E. *et al.* 2020). O quadro clínico, diferente das hemofilias que apresentam um maior número de ocorrência, a hemofilia adquirida por não demonstrar caráter hereditário, costuma aparecer após os 40 anos de idade do paciente, diferente dos demais tipos, que apresentam sinais e sintomas desde a infância, além de apresentar uma ocorrência igual em ambos os sexos (OLIVEIRA et al. 2022).

O diagnóstico laboratorial da hemofilia se baseia no resultado de TTPA (tempo de tromboplastina parcial ativada) prolongada e dosagem dos níveis de um dos fatores de coagulação já citados (OLIVEIRA et al. 2022). O TTPA avalia as vias intrínsecas e comuns da cascata de coagulação, sendo mais sensível a deficiências dos fatores VIII e IX ou fatores de via comum (OLIVEIRA et al. 2022). O exame de coagulograma se mostra indispensável, para verificar se a coagulação do paciente se apresenta em um estado normal, sendo fundamental em pré-operatórios (OLIVEIRA et al. 2022).

Tabela 2 – Exames de coagulação

Exame	Valor de referência	Interpretação do exame
Contagem de Plaquetas	240.000/mm ³	Detecta trombocitopenia quando a contagem é inferior a 150.000 mm
Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado (TTPa)	Menor que 35 segundos, podendo ocorrer variação entre 25-39 segundos	Alterações indicam deficiências ou inibidores dos fatores da coagulação na via intrínseca e na comum*
Tempo de Protrombina (TP)	Entre 10 e 14 segundos	Alterações mostram que há irregularidades nos fatores de coagulação, além da presença de inibidores que podem prolongar o TP*
Tempo de Trombina (TT)	Entre 9 e 12 segundos	Detecta disfibrinogenemia
Tempo de Sangramento (TS)	Menor que 3 minutos	O tempo prolongado, apontam anormalidade nas plaquetas, sendo estas quantitativa ou qualitativa*

*TTPa: Fatores como a pré-caliceína, cininogênio de alto peso molecular, XII, XI, IX, VIII, X, V, protrombina e fibrinogênio

*TP: Fatores V, VII, X, fibrinogênio ou protrombina

*TT: O teste mede o tempo de conversão de fibrinogênio em fibrina, que é a última fase da coagulação. Podem apresentar níveis de fibrinogênio alterados, abaixo de 70 a 100 mg/dL, ou níveis elevados de produtos de degradação de fibrinogênio ou fibrina.

*TS: Alterações indicam um defeito na interação plaqueta-vaso (doença de von Willebrand) ou uma doença vascular primária.

Fonte: Adaptado de PINHEIRO et al., 2017.

Os testes laboratoriais que apresentam alterações são os que calculam o tempo de coagulação (TC) aumentado, TTPA aumentado, teste de geração da tromboplastina alterado e dosagem dos fatores VIII e IX alterada com taxas variáveis (OLIVEIRA, et al. 2022). Para a dosagem dos fatores no endotélio sanguíneo, é considerado um valor normal de 1UI/ml (100%), a partir disso a patologia é classificada conforme nomenclatura da tabela.

Tabela 3 – Valores referenciais por mililitro de sangue.

Gravidade	Fator VIII ou Fator IX	Manifestações hemorrágicas
Grave	1 UI/dl a 5 UI/dl (0,01-0,05 UI/mL) ou 1% a 5% do normal	Sangramentos articulares (hemartrose) ou musculares (hematomas) relacionados a traumas, ou frequentemente sem causa aparente (espontâneos)
Moderado	1 UI/dl a 5 UI/dl (0,01-0,05 UI/mL) ou 1% a 5% do normal	Sangramentos normalmente relacionados a traumas, apenas ocasionalmente espontâneos. Sangramento prolongado após pequenos traumas ou procedimentos
Leve	5 UI/dl a 40 UI/dl (0,05-0,40 UI/mL) ou 5% a < 40% do normal	Sangramentos associados a traumas maiores ou procedimentos

Fonte: White et al. (2001) e Blanchette et al. (2014).

A gravidade da hemofilia é classificada segundo o grau do déficit de fator de coagulação, quanto menor a quantidade de fator de coagulação disponível, maior é a gravidade da doença. Ocorrem sangramentos espontâneos nos músculos e articulações com frequência, além disso, ferimentos leves podem originar hemorragias graves (CAGNOLATI, et al. 2017).

Esta doença possui um tratamento extenso, uma vez que não foi identificado cura definitiva, mas terapias podem ser realizadas nos episódios de hemorragia e para prevenir uma possível complicação. Independente da gravidade da doença, o tratamento é por meio de medicamentos adjuvantes e na profilaxia dos sangramentos e concentrados do fator plasmático para reposição do fator deficiente, concentrado de fator VIII no tipo A e concentrado de fator IX no tipo B, estes que podem ser produzidos de plasma de doações, derivados plasmáticos ou através de biotecnologia. (ANTUNES, 2021).

O Concentrado de complexo protrombínico (CCP), é indicado no tratamento em deficiências dos fatores II, VII e X por possuir os fatores II, VII, IX e X que também é adquirido por fracionamento de pool de plasma (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018). Para os hemofílicos tipos A, este tratamento é recomendado quando foi desenvolvido inibidores, isto é, anticorpos específicos contra o fator VII, e para os hemofílicos B, àqueles que não apresentam risco de trombose, ou seja, os quais não apresentam insuficiência hepática, trauma, trombofilias ou quando são necessárias poucas infusões (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018).

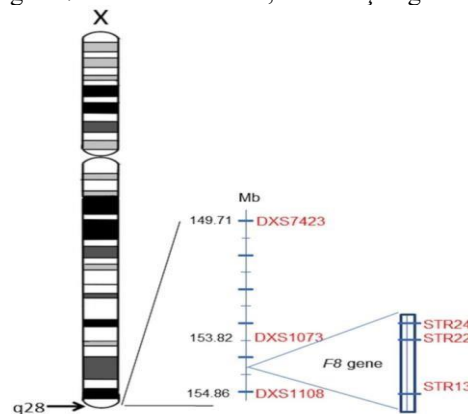
Nos casos em que os inibidores estão em níveis altos, indica-se o Concentrado de complexo protrombínico ativado (CCPA), produto semelhante ao anterior, entretanto os fatores

II, VII, IX e estão ativados, e é recomendado para tanto pacientes com hemofilia A quanto para Hemofilia B. (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018) Já para hemofílicos A de grau leve, indica-se o DDAVP (1-desamino-8-Darginina vasopressina) que age em sangramentos, como epistaxe, hematúria, menorragia, pequenos traumas e pequenas cirurgias (por exemplo, extração dentária) (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018).

O plasma fresco congelado (PFC) é fortemente utilizado no tratamento das coagulopatias menos frequentes, como as deficiências dos fatores II, V, VII, X e XIII (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018). Sua dosagem é de 15 a 20 mL/kg de peso, e apenas em episódios hemorrágicos de pequena monta, pois atinge níveis plasmáticos entre 15% e 20% (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018). Desse modo, não é adequado para o tratamento de hemorragias graves ou intervenções cirúrgicas (MARTÍNEZ SANCHES, L. M, 2018).

O padrão de herança da doença é recessivo ligado ao cromossomo X e afeta em sua maioria nascidos masculinos (CHAMORRO et al. 2020). Essa doença possui uma grande heterogeneidade clínica devido à enorme variedade de mutações descritas no gene F8, produtor do Fator VIII da cascata de coagulação (LYU, C. et al.2016). Alterações no gene F8 causam a deficiência do fator VIII e por isso são a causa da Hemofilia A (LYU, C. et al.2016).

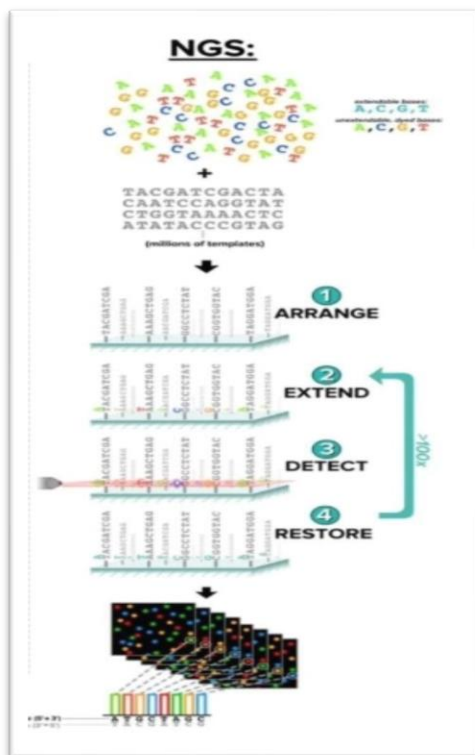
Figura 7 - Cromossomo X, localização gene F8.



Fonte: Gargiola, Isabella, et al. (2015)

O estudo de Lyu et al (2016) mostra o diagnóstico através da técnica molecular, um sequenciamento de alto rendimento nos genes F8 (responsável pelo fator VIII de coagulação) e F9 (responsável pelo fator IX de coagulação), também conhecido como NGS – Sequenciamento da Nova Geração (LYU, C. et al.2016). O NGS é um método muito utilizado atualmente para diagnósticos de diversas patologias decorrentes de alterações de genes, a técnica apresenta alta precisão, também possibilita a rápida identificação de grandes sequencias de pares de bases de DNA abrangendo genomas inteiros (LIANG, J. et al.2016).

Figura 8 – Mecanismos da técnica NGS

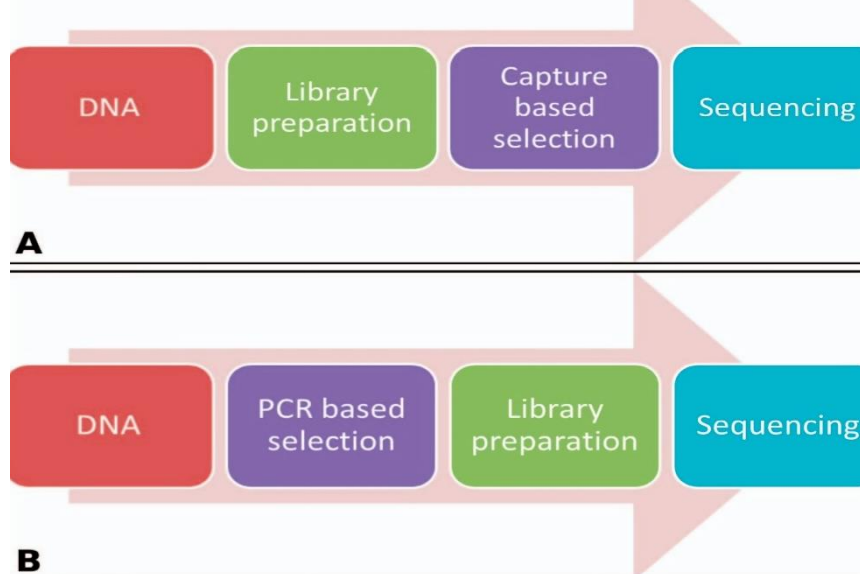


Fonte: Muzzey, Dale et al. (2015)

O Sequenciamento de Nova Geração (NGS) ou Sequenciamento Massivamente Paralelo, um método de sequenciamento simultâneo de milhões de fragmentos de DNA (ou DNA complementar), foi rapidamente adotado no laboratório clínico devido a sua capacidade de analisar simultaneamente vários genes (YOHE et al. 2017).

O NGS é um método de teste estabelecido para a linhagem germinativa (herdada) e somática (mutações adquiridas) em muitos laboratórios clínicos (YOHE et al. 2017). Para doenças hereditárias, os testes para mutações germinativas podem incluir painel direcionado, exoma completo, genoma completo ou sequenciamento de DNA mitocondrial (YOHE et al. 2017).

Figura 9 - Visão geral para sequenciamento baseado em captura



Fonte: (YOHE et al. 2017)

As amostras passam por extração de DNA, preparação de biblioteca, enriquecimento alvo e sequenciamento (Figura 6). (YOHE et al. 2017).

A preparação de biblioteca refere-se ao processo de preparação do DNA para uso em um sequenciador (YOHE et al. 2017). Embora muitos métodos disponíveis, todos eles resultam na quebra do DNA em fragmentos e adicionando adaptadores as extremidades, estes adaptadores podem incluir códigos de barras moleculares (para permitir o agrupamento de amostras de pacientes), Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), sequencias de hibridização para ligar o DNA fragmento a uma superfície e locais de reconhecimento para iniciar o sequenciamento (YOHE et al. 2017).

A biblioteca resultante passa por enriquecimento para análise do exoma completo e teste direcionado ou é sequenciado diretamente para análise do genoma completo (YOHE et al. 2017). O enriquecimento pode ser realizado por hibridização com sequências complementares (captura de sequência) ou por PCR (YOHE et al. 2017).

O enriquecimento por PCR é geralmente combinado com a etapa de preparação da biblioteca, já que os primers que selecionam as regiões de interesse também podem conter as sequencias adaptadoras (YOHE et al. 2017).

A maior parte dos sequenciamentos clínicos é realizada em 1 de 2 tipos principais de instrumentos: sequenciadores Illumina (San Diego, Califórnia) incluindo HiSeq, MiSeq e NexSeq, ou a série de máquinas Ion Torrent incluindo o IonPGM IonProton e IonS5 (Thermo Fisher Scientific) (YOHE et al, 2017). Estes 2 tipos de máquinas diferem em sua química, detecção, métodos, vantagens e desvantagens (YOHE et al. 2017).

Quanto antes a profilaxia for iniciada, menores serão as sequelas provocadas pelos sangramentos (HOFFBRAND; MOSS, 2018). A disponibilidade crescente de concentrados de fator VIII passíveis de refrigeração doméstica alterou significativamente o tratamento à hemofilia e atualmente, à menor suspeita de sangramento, a criança hemofílica pode ser tratada de forma domiciliar (HOFFBRAND; MOSS, 2018). Esse avanço diminuiu a ocorrência de hemartrose incapacitante e a necessidade de internação, de tal forma que os pacientes gravemente afetados atualmente atingem a vida adulta com nenhuma ou pouca artropia (HOFFBRAND; MOSS, 2018).

A profilaxia é a terapia padrão recomendada pela Organização Mundial de Saúde - OMS, assim como pela Federação Mundial de Hemofilia para pessoas com hemofilia grave (BEZERRA et al, 2022). Quantificar a real adesão do paciente e relacionar ao desfecho clínico é de fundamental importância para acompanhar os benefícios advindos com o tratamento (BEZERRA et al, 2022).

Estudos realizados com pessoas com hemofilia têm evidenciado que pessoas apresentam maior adesão a regimes de tratamento de alta intensidade, como a profilaxia, apresentam correlação com melhores pontuações de qualidade de vida, sangramentos e dor no corpo (BEZERRA et al, 2022).

Em outro estudo, portadores de hemofilia A, foram abordados quanto aos padrões de tratamento de saúde a qualidade de vida e a adesão a profilaxia (BEZERRA et al, 2022). Neste também se evidenciou que a profilaxia leva a melhores resultados (BEZERRA et al, 2022). Observou-se ainda que para os pacientes que foram prescritos tratamentos de profilaxia, a adesão demonstrou-se diminuir com o aumento da idade, isso se justifica pelo fato de que quando criança há um adulto responsável pela infusão (BEZERRA et al, 2022). Concluiu que o aconselhamento ou a maior monitorização e apoio durante os pontos de transição poderiam melhorar a adesão aos tratamentos e, posteriormente, saúde e qualidade de vida do paciente (BEZEERA et al, 2022). A qualidade de vida relacionada à saúde é influenciada por fatores além da doença e seu tratamento em si, mas também a forma como o paciente lida com a patologia e o acesso ao atendimento e tratamento adequado (TRINDADE et al., 2019). No caso da hemofilia, os fatores que se destacam são: restrições à atividade física, a preocupação com hemorragias que podem ser fatais, o desenvolvimento de artropatia, a necessidade de procedimentos ortopédicos e doenças infecciosas, vetorizadas por sangue ou hemoderivados (TRINDADE et al., 2019).

Nas últimas décadas a terapêutica da hemofilia teve uma magnífica evolução (BEZERRA et al, 2022). O aprimoramento das técnicas de inativação viral propiciou maior

segurança no uso dos fatores de coagulação derivados do plasma, evitando assim a contaminação, de pessoas portadoras de hemofilia, por agentes patológicos transmissíveis pelo sangue, como o vírus HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana – e HCV - Vírus da Hepatite C, o que contribuiu para diminuição da morbidade e melhoria na qualidade de vida (BEZERRA et al, 2022). Outro ponto importante foi o aprimoramento do desenvolvimento da tecnologia do fator recombinante, que permite: a produção de fator de coagulação por técnicas de biologia molecular, sendo altamente purificados; Desenvolvimento de fatores de longa duração na circulação e/ou mais potentes e/ou menos imunogênicos (BEZERRA et al, 2022).

Novas técnicas de bioengenharia têm vindo a ser desenvolvidas, nos últimos anos, visando aumentar a vida média do FVIII e FIX (fatores de longa duração) (BEZERRA et al, 2022). Sendo que alguns países já aprovaram essas novas terapêuticas (BEZERRA et al, 2022). Outras novas terapêuticas alternativas, que apresentam mecanismos, de ação diversos, a fim de aumentar a geração de trombina também estão em desenvolvimento, sendo que alguns já estão disponíveis para uso (BEZERRA et al, 2022). Entre essas terapêuticas contam-se os inibidores das vias dos inibidores (a via da proteína C, via da antitrombina, e o inibidor da via do fator tecidual), que atuam reduzindo a atividade anticoagulante fisiológica; o anticorpo monoclonal (ACE 910), que mimetiza a atividade de cofator do FVIII; os agentes de bypass alternativos (variantes do FX, FV e FIX); e a terapia gênica (BEZERRA et al, 2022).

6 CONCLUSÃO

O projeto apresentado dispõe como objetivo fundamental retratar o quadro de hemofilia, desde seu surgimento histórico, manifestações clínicas, diagnóstico até seu tratamento.

A hemofilia tipo A e tipo B trata-se de uma doença hereditária idiopática ligada ao cromossomo X, sendo dessa forma, comumente identificada em pacientes do sexo masculino, reconhecida como a ausência parcial ou total dos fatores VIII e IX que compõe a cascata de coagulação, resultando em sangramentos exacerbados em diversos tecidos do corpo.

Atualmente as tecnologias proveem diagnósticos precoces através de exames capazes de mensurar quantitativamente a hemostasia como por exemplo, o exame de contagem de plaquetas, popularmente conhecido. Também existem tratamentos eficazes para melhorar a qualidade de vida dos pacientes portadores da doença, o principal deles é a reposição dos fatores de coagulação ausentes através de concentrados injetáveis, além dos fármacos e das profilaxias para as hemorragias já expressas. Os pacientes com suspeita da doença devem ser

encaminhados aos hemocentros de seus estados e municípios para realizarem diagnóstico e tratamento especializados.

A hemofilia apesar de largamente estudada ainda é uma doença de alterações e mecanismos genéticos que exigem maior compreensão, uma vez que a ciência ainda não reconhece cura para eliminação total da doença. É importante colocar em pauta que grandes autores relatam comparações entre os pacientes portadores da patologia, mas sempre enfatizam a comodidade dos pacientes, como lidam com a situação e se tem acesso ao tratamento ou atendimento adequado.

Ademais, pelo fato de a hemofilia ser uma condição crônica, as pessoas convivem por longo tempo com os sintomas, apresentando períodos de melhora ou de piora, podendo em algumas situações causar sofrimento ou gerar incapacidades. Os pacientes hemofílicos necessitam de cuidados permanentes a nível biopsicossocial, de modo geral, pensa-se que o apoio e o envolvimento entre paciente, família e equipe multidisciplinar são fundamentais para o êxito das medidas profiláticas e terapêuticas e o pleno alcance de bem-estar do indivíduo hemofílico.

REFERÊNCIAS

BEZERRA, J. R. P.; TIAGO, A. C. da S.; QUINTAL, J. da S.; BURITI, M. A.; BURITI, M. A.; RIBEIRO, C. H. M. A.; SILVA, M. V. S. da. Relation between adherence to treatment and life quality with hemophilia: integrative review of literature. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 11, 2022.

CAGNOLATI, D.; SANKARANKUTTY, A. K; ROCHA, J. P. S.; BEER, A; SILVA, O. C. **Hemostasia e distúrbios da coagulação**, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -USP- Ribeirão Preto - SP, 2017.

CHAMORRO, R; MENDES, A. Hemofilia: Conheça a doença que afeta quase exclusivamente homens. Ministério da Saúde, 2020.

FEIJÓ, A. M. Et al. Adaptando para (con)viver: experiência de homens com a hemofilia no sul do Brasil. *Revista Gaúcha de Enfermagem*, v.42, p. e20200097, 2021.

GOV.BR. **Brasil tem a quarta maior população de pacientes com hemofilia do mundo.** Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/janeiro/brasil-tem-a-quarta-maior-populacao-de-pacientescom-hemofilia-do-mundo>. Acesso em: 18 abr. 2024

GURGEL, E. *et al.* HEMOFILIA ADQUIRIDA TIPO A: RELATO DE CASO: Hematology, Transfusion and Cell Therapy. **HTCT, Fortaleza**, v. 45, n. 4, p. 417-524, 2023. HOFFBRAND, A. V; MOSS, P. A. H. Fundamentos em hematologia. 7.ed. Porto Alegre, 2018.

LIANG J, et al. Development and validation of an ultra-high sensitive nextgeneration sequencing assay for molecular diagnosis of clinical oncology. *Int J Oncol.* Nov. vol.49. n°.5, 2016

LYU, C. et al. Identification of mutations in the F8 and F9 gene in families with haemophilia using targeted high-throughput sequencing. *J Haemophilia.* Sep. vol 22. n° 5, 2016

PIO, S. F.; OLIVEIRA, G. C. DE.; REZENDE, S. M. As bases moleculares da hemofilia A. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.55, n. 2, p. 213-219, 2009.

REDEDORSAOLUIZ. **TTPA.** Disponível em: <https://www.rededorsaoluiz.com.br/exames-e-procedimentos/analises-clinicas/ttpa.>> Acesso em: 16 abr. 2024

OLIVEIRA, A. B. T. De MAGALHÃES et al. Hemophilia: Pathophysiology and Diagnosis. *Research, Society and Delopment*, (S. l.), v.11, n.12, p. e564111234935, 2022.

RIBEIRO, J. P. Q. D. S. *et al.* Aspectos genéticos da hemofilia. A revisão bibliográfica. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 7, n. 5, 2021.

SAYAGO, Mariana; LORENZO, Cláudio. O acesso global e nacional ao tratamento da hemofilia: reflexões da bioética crítica sobre exclusão em saúde. *Interface, comunicação, saúde, educação*, Botucatu, v. 24, n. 11, p. 1-15, 2020.

SAÚDE, Ministério Da; TEMÁTICA, S. D. A. À. S. D. D. A. E. E. Manual da hemofilia. Manual da hemofilia, Brasília - DF, v. 2, n. 1, p. 1-82, 2022.

SAYAGO, M. and LORENZO, C. O acesso global e nacional ao tratamento da hemofilia: reflexões da bioética crítica sobre exclusão em saúde. *Interface (Botucatu)*, vol. 24, 2020.

TRINDADE, G. C. et al. Evaluation of quality of life in hemophilia patients using the WHOQOL-bref and Haemo-A-Qol questionnaires. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, v.41, n.4, p. 335-341, out. 2019.

UNIDOS PELA HEMOFILIA. **A HEMOFILIA**. Divinópolis, v.41, n.4, p.335-341, 2019. Disponível em <<https://www.unidospelahemofilia.pt/>> Acesso em: 16 abr. 202

YOHE, S. *et al.* Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, Northfield, v. 141, n. 11, p. 1544-1557, 2017.