



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

LAIS DA SILVA NASCIMENTO

**GENES ASSOCIADOS A TROMBOFILIAS HEREDITÁRIAS PARA CONSTRUÇÃO
DE PAINEL DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

CAMPINA GRANDE – PB

2022

LAIS DA SILVA NASCIMENTO

**GENES ASSOCIADOS A TROMBOFILIAS HEREDITÁRIAS PARA CONSTRUÇÃO
DE PAINEL DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba campus I, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes

CAMPINA GRANDE – PB

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

N244g Nascimento, Lais da Silva.
Genes associados a trombofilias hereditárias para construção de painel de diagnóstico molecular [manuscrito] / Lais da Silva Nascimento. - 2022.
39 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes, Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."

1. Trombofilia. 2. Análise molecular. 3. Metilenotetrahidrofolato redutase. I. Título

21. ed. CDD 616.135

LAIS DA SILVA NASCIMENTO

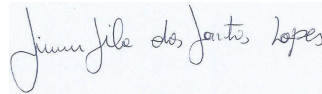
**GENES ASSOCIADOS A TROMBOFILIAS HEREDITÁRIAS PARA
CONSTRUÇÃO DE PAINEL DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba campus I, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Biologia.

Aprovada em: 30/06/2022.

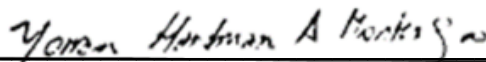
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Simone Silva dos Santos Lopes (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dr. Walclecio Moraes Lira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Msc. Yorrnan Hardman Araujo Montenegro
Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Neurociências (UFRGS)

A minha verdadeira família, aquela que escolhi e me escolheu, que nunca me deixou desistir e me motivou quando mais precisei, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus que me sustentou durante toda a graduação, mesmo quando estava desacreditada de Sua presença em minha vida.

Agradeço ao meu irmão caçula, Moisés, por sempre estar ao meu lado independente das dificuldades pelas quais passamos. Você sempre será uma das bases necessárias para me manter de pé. Amo você desde sempre e para sempre.

A minha amiga, Ellynes, obrigada por ser quem me apresentou ao curso de Ciências Biológicas e me fez ficar apaixonada por tudo o que ele representa. Sem você eu não teria iniciado essa jornada e minha vida acadêmica não seria a mesma. Obrigada por todas as orientações e puxões de orelha durante meu início na graduação. Você foi e sempre será uma grande influência para mim.

Ao meu namorado, Lucas, por toda paciência, compreensão, carinho e amor. Por me ajudar muitas vezes a achar o lado positivo das coisas mesmo quando este parecia não existir. Você foi a pessoa que compartilhou comigo os momentos de tristezas e alegrias. Sem você tudo teria sido mais complicado. Amo você.

Ao meu amigo, Tiago, que sempre foi um ombro amigo em momentos bons ou ruins. Você é um exemplo de força e superação. Amo você e espero tê-lo sempre em minha vida.

As minhas amigas, Déborah, Manuela, Ohana e Samara, agradeço por todo o apoio e respostas compartilhadas ao longo da graduação. Amo vocês. Não imagino companheiras melhores para vencer a graduação ao meu lado. Serei eternamente grata por todos os momentos e pelas pessoas incríveis que vocês são.

Ao departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, a todos os professores que me acompanharam durante toda a trajetória. Em especial, agradeço a professora Simone Lopes, por ter me recebido - após anos de tentativas - como orientanda e ter me dado a oportunidade de aprender com a senhora, fazendo parte da família que constitui o Laboratório de Genética e Biologia Molecular. Obrigada professora.

RESUMO

Introdução: A Trombofilia é tida como um grupo de doenças que ocasiona a trombose através mutações em genes relacionados aos fatores de coagulação, mas também em genes associados aos processos de sinalização molecular que desencadeiam este processo, causando uma formação inadequada de coágulos. Estes podem ser de origem genética ou adquirida, no entanto, é mais comum que ocorram devido a uma correlação entre ambos os fatores para que a patologia manifeste sua sintomatologia clínica. **Objetivo:** Realizou-se uma revisão bibliográfica objetivando reunir os métodos moleculares de diagnóstico de trombofilias hereditárias correntes e demonstrar àquele que apresente maior otimização para a prática diagnóstica clínica, assim como um melhor custo benefício para o rastreio de mutações para o gene Metilenotetrahidrofolato. **Metodologia:** Os artigos científicos foram extraídos dos bancos de dados eletrônicos *Science Direct* e Portal de Periódicos CAPES entre os meses de janeiro de 2017 e março de 2022, com delimitação idiomática em inglês e português. Foram utilizados como descritores as palavras-chaves: “*Hereditary thrombophilias*”, “*molecular analysis*”, “*diagnosis for thrombophilia*”, “*methylenetetrahydrofolate reductase*”. **Resultados:** Selecionou-se 125 artigos no total. Após critérios de inclusão, a amostra total foi reduzida para 48 artigos que incluíam todas as palavras chaves selecionadas. Após a leitura acurada, 14 compuseram a amostra de artigos que atenderam aos critérios de inclusão da pesquisa e garantiram a maior qualidade de artigos incluídos nas análises descritivas. **Conclusão:** Foram identificadas diferentes metodologias (Sequenciamento Ion Torrent Next Generation (NGS), Método de hibridização reversa Multiplex PCR, PCR-RFLP e Western blot). Todas demonstraram eficiência comprovada para o diagnóstico molecular, e são consideradas mais eficazes do que o método tradicional de rastreio através de PCR em Tempo Real, porém, vêm atreladas à problemática de um alto custo para sua execução. No que diz respeito à relação do gene Metilenotetrahidrofolato foi verificada a relação deste com eventos de TEV, porém são necessários mais estudos acerca do mesmo para verificação de sua relação com eventos trombóticos.

Palavras-chave: Trombofilias hereditárias. Análise Molecular. Diagnóstico para trombofilias.

ABSTRACT

Introduction: Thrombophilia is considered a group of diseases that cause thrombosis through mutations in genes related to clotting factors, but also in genes associated with molecular signaling processes that trigger this process, causing inadequate clot formation. These can be of genetic or acquired origin, however, it is more common that they occur due to a correlation between both factors for the pathology to manifest its clinical symptoms. **Objective:** A literature review was carried out with the aim of bringing together the molecular methods of diagnosis of current hereditary thrombophilia and demonstrating the one that presents the greatest optimization for clinical diagnostic practice, as well as a better cost benefit for the screening of mutations for the Methylene tetrahydrofolate gene. **Methodology:** Scientific articles were extracted from the electronic databases Science Direct and Portal de Periódicos CAPES between January 2017 and March 2022, with idiomatic delimitation in English and Portuguese. Keywords were used as descriptors: “Hereditary thrombophilias”, “molecular analysis”, “diagnosis for thrombophilia”, “methylene tetrahydrofolate reductase”. **Results:** A total of 125 articles were selected. After inclusion criteria, the total sample was reduced to 48 articles that included all selected keywords. After an accurate reading, 14 comprised the sample of articles that met the research inclusion criteria and ensured the highest quality of articles included in the descriptive analyses. **Conclusion:** Different methodologies were identified (Ion Torrent Next Generation Sequencing (NGS), Multiplex PCR Reverse Hybridization Method, PCR-RFLP and Western blot). All have demonstrated proven efficiency for molecular diagnosis, and are considered more effective than the traditional screening method through Real Time PCR, however, they are linked to the problem of a high cost for their execution. Regarding the relationship of the Methylene tetrahydrofolate gene, its relationship with VTE events was verified, but further studies are needed to verify its relationship with thrombotic events.

Keywords: Hereditary thrombophilias. Molecular analysis. Diagnosis for Thrombophilia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Gráfico de acréscimo por ano.....	23
Fluxograma 1 - Esclarecimento do processo de seleção de artigos para revisão.....	
.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo das informações dos genes que contribuem para TH.....	18
Tabela 2 - Artigos encontrados para cada palavra-chave e sua combinação booleana	24
Tabela 3 - Resumo das informações dos artigos selecionados.....	24
Tabela 4 - Resumo das informações dos genes analisados.....	27
Tabela 5 - Resumo das informações dos artigos selecionados.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAF	Anticorpos antifosfolídeos
APC	Proteína C ativada
APS	Proteína S ativada
AT	Antitrombina
DTNs	Defeitos de Fechamento do Tubo Neural
EP	Embolia Pulmonar
FGG	Fibrinogênio Gama
FV	Fator de coagulação V
FII	Fator de coagulação II
FVL	Fator V de Leiden
MTHFR	Metilenotetrahidrofolato Redutase
PC	Proteína C
PLG	Genes Plasminogênicos
PLA	Ativadores de Plasminogênio
PS	Proteína S
SNP's	Polimorfismos de base única
TEV	Tromboembolismo venoso
TV	Trombofilias Hereditárias
TVP	Trombose Venosa Profunda
TVS	Trombose Venosa Superficial
5-MTHFR	5- metilenotetrahidrofolato redutase
5,10-MTHFR	5,10- metilenotetrahidrofolato redutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2.1	Trombofilias Hereditárias.....	13
2.2	Gene MTHRF	15
2.3	Outros Genes identificados	16
2.4	Diagnósticos Moleculares	20
2.5	Tratamentos das Trombofilias	21
3	METODOLOGIA.....	22
4	RESULTADOS.....	22
5	DISCUSSÃO.....	30
5.1	Diagnósticos Moleculares.....	30
5.2	Avanços e dificuldades no diagnóstico e tratamento das trombofilias.....	31
5.3	Aconselhamento genético no diagnóstico das trombofilias...	33
6	CONCLUSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

As Trombofilias Hereditárias (TH) são tidas como um grupo de doenças que ocasiona a trombose através mutações em genes relacionados aos fatores de coagulação, mas também em genes associados aos processos de sinalização molecular que desencadeiam este processo, causando uma formação inadequada de coágulos, causando assim uma formação inadequada de coágulos (AHANGARI et al., 2019). As TH são condições intrínsecas de um indivíduo, e a sua prevalência em pacientes com tromboembolismo venoso profundo (TVP) varia de acordo com a sua etnia e aspectos epidemiológicos das populações estudadas (GUIMARÃES et al., 2009). Em populações caucasianas, a incidência pode chegar até a 40% (ALMEIDA et al., 2020). No entanto, para que um evento tromboembólico ocorra, é necessária a presença de fatores desencadeantes que provoquem a hipercoagulabilidade, lesão endotelial ou estase sanguínea (LIMA, 2017).

Clinicamente, as TH se apresentam como tromboembolismos venosos (TV), com maior ocorrência em indivíduos jovens (< 45 anos) (GUIMARÃES et al., 2009) que apresentem histórico familiar de eventos trombóticos associados a uma recorrência familiar frequente de trombose migratória/difusa ou, ainda, em local pouco comum ao TV como trombose na extremidade superior, no trato digestivo e no seio cerebral, e, finalmente, episódio trombótico desproporcionalmente grave em relação ao estímulo desencadeante (CORREA, TIECHER, DA SILVA, 2019). Em gestantes, as manifestações trombofílicas podem ocasionar complicações obstétricas como dificuldade para engravidar, complicações gestacionais, retardo do crescimento fetal e abortos recorrentes espontâneos (CORREA, TIECHER, DA SILVA, 2019).

Geneticamente, a ocorrência de trombofilias são relacionadas a fatores como mutação do fator V Leiden (FVL), deficiências das proteínas C e S, deficiência de antitrombina III, deficiência de glicoproteína rica em histidina, hiper-homocisteinemia e mutação 20210A do gene da protrombina (DAUTAJ et al., 2019). A expressão gênica dessas proteínas defeituosas pode resultar em sintomatologias como necrose cutânea, ulcerações, isquemia digital e púrpura retiforme (DAUTAJ et al., 2019).

A condução clínica para o diagnóstico de trombofilias deve ser individualizada, a partir da manifestação sintomatológica do indivíduo ou familiares, garantindo em uma maior eficácia na prevenção e tratamento da patologia (ALMEIDA et al., 2020). Devido à dificuldade na aplicação de um método analítico único, bem padronizado e amplamente aceito para rastreamento genético das trombofilias, uma lista de investigações deve ser realizada em um paciente com suspeita de tal anomalia (GUIMARÃES et al., 2009). Historicamente, o primeiro agente conhecido como determinante de TH foi a deficiência de antitrombina - uma proteína plasmática inibidora da trombina, principal responsável pela conversão de fibrinogênio em fibrina (COOPER; GOODEVE; BEAUCHAMP, 2012). Atualmente, as investigações para a detecção de TH incluem: i) ensaios de antitrombina (AT), proteína C (PC) e proteína SV (PS); ii) testes de resistência a proteína C ativada (APC) e/ou FVL; e, iii) investigações laboratoriais para a proteína S ativada (APS) (GUIMARÃES et al., 2009). Durante essas investigações, é aconselhável realizar os testes para rastreamento dos fatores de coagulação, como, tempo de protrombina, tempo de tromboplastina parcial ativada, tempo de trombina, para detectar a presença de diferentes drogas anticoagulantes, o que pode interferir com certos testes laboratoriais (CARVALHO; SILVA; HENNEBERG, 2016).

Atualmente, observa-se uma possível correlação entre o gene Metilenotetrahidrofolato (MTHF) e as TH. O gene MTHFR desempenha um papel central no metabolismo do folato e da homocisteína, catalisando a conversão do Metilenotetrahidrofolato em sua forma circulatória primária de folato - utilizada na remetilação da homocisteína em metionina, crucial no processo de coagulação sanguínea (FROSST et al., 1995). Uma variação genética neste gene pode criar uma susceptibilidade à doença vascular oclusiva, defeitos do tubo neural, câncer de cólon, doença coronariana, e leucemia aguda (AMARAL, 2012). Mutações no MTHFR estão associadas à deficiência de metilenotetrahidrofolato redutase, assim como produtos metabólicos da via metabólica do ácido fólico (SCHWAHN; ROZEN, 2001).

Devido a sua relação já estabelecida com os fatores de coagulação, buscou-se então esclarecer no presente trabalho se existe uma correlação entre o gene MTHFR e casos de TH (GUIMARÃES et al., 2009). Ademais, levando-se em conta a sua grande incidência e relevância no cenário do sistema de saúde, deve-se considerar que o Brasil é fonte de uma população diversa e miscigenada, possuindo

uma contribuição tripla em sua matriz genética, portanto sendo mais suscetível a doenças de caráter genético/hereditários (THOMPSON E THOMPSON, 2016). Podemos então reconhecer, a importância de possuir um levantamento das melhores metodologias para promover o diagnóstico molecular para as TH, assim como a importância de se ter um painel de genes onde podemos identificar as principais contribuições genéticas na população brasileira para casos de trombofilias, podendo assim auxiliar no rastreio precoce realizado pelo sistema de saúde.

O presente trabalho teve como objetivo então, reunir os métodos moleculares de diagnóstico de trombofilias hereditárias correntes e demonstrar àquele que apresente maior otimização para a prática diagnóstica clínica, assim como um melhor custo benefício para o rastreio de mutações para o gene Metilenotetrahidrofolato. Bem como compreender suas causas e consequências; para apontar tendências metodológicas e novas abordagens.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Trombofilias hereditárias

O processo de coagulação é comumente explicado utilizando-se o modelo de cascata de coagulação de Macfarlane (1964). Neste trabalho, Macfarlane descreve as interações bioquímicas na coagulação através de duas vias distintas, denominadas Extrínseca e Intrínseca.

Na via extrínseca, há o envolvimento dos componentes do sangue, mas, também, de elementos que usualmente não estão presentes no espaço intravascular. Esta, seria ativada a partir da exposição da tromboplastina presente no tecido do endotélio lesado (na presença do seu cofator, o fator tecidual ou tromboplastina) (FRANCO, 2001). O fator VII (proconvertina) é ativado (tornando-se VIIa) quando entra em contato com a tromboplastina e então, juntamente com íons cálcio ativam o fator X (Xa) da coagulação, desencadeando a geração de trombina e subsequente formação de fibrina. Já na via intrínseca (iniciada por componentes presentes apenas no meio intravascular), que convergem no ponto de ativação do fator X (via final comum a via extrínseca) (RODRIGUES; CASTILHO-FERNANDES;

FONTES, 2012). A ativação do fator XII ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície, contendo cargas elétricas negativas (por exemplo, a parede de um tubo de vidro durante exames laboratoriais). Tal processo, conhecido como ativação por contato, precisa ainda da presença de outros componentes do plasma: pré-caliceína (uma serinoprotease) e cininogênio de alto peso molecular (um cofator não enzimático) (FRANCO, 2001). O fator XIIa ativa o fator XI, que, por sua vez, ativa o fator IX. O fator IXa, na presença de fator VIII, ativa o fator X da coagulação, desencadeando a geração de trombina e subsequente formação de fibrina na via intrínseca (FRANCO, 2001; RODRIGUES, CASTILHO-FERNANDES, FONTES, 2012).

Atualmente o modelo da cascata de coagulação precisa de novas atualizações, uma vez que observou-se diferenças significativas durante o processo hemostático *in vivo* (MACFARLANE, 1964). Ferreira et al. (2010) introduzem um modelo baseado em superfícies celulares, esclarecendo o mecanismo fisiopatológico de certos distúrbios da coagulação *in vivo*. Neste modelo proposto, a hemostasia necessita de substâncias pró-coagulantes ativadas que permaneçam localizadas no sítio da lesão para a formação de tampão plaquetário e fibrina, moléculas presentes nas membranas das células ao redor do leito vascular que criam esta estrutura. O modelo proposto considera a correlação dos processos físicos, celulares e bioquímicos que atuam em uma série de estágios ou fases, diferentemente do proposto por Macfarlane, não apenas em duas vias distintas (FRANCO, 2001; FERREIRA et al., 2010).

Segundo Franco (2001), as reações envolvidas em processos bioquímicos da coagulação sanguínea devem ser estritamente reguladas para manter a homeostase do sistema circulatório. As trombofilias, tratam-se de anormalidades nesse equilíbrio (FRANCO, 2001). Essas anomalias decorrem de possíveis processos de regulação gênica (MARTÍNEZ; FERNÁNDEZ, 2012). Devido a íntima associação com a composição genética do indivíduo, as THE necessitam de um olhar clínico especializado na busca dos possíveis mecanismos, dentre os supracitados, que podem gerar ao seu quadro clínico patogênico como, por exemplo, indivíduos com histórico familiar de trombose (mais de um parente de primeiro grau), ou mulheres que tenham apresentado alguma complicações obstétricas (38% das mulheres com abortos recorrentes precoces e tardios podem ter um estado trombofílico adquirido,

geralmente devido à presença de anticorpos antifosfolípidos (AAF) positivos) (ALMEIDA et al., 2020).

2.2 Gene MTHFR

O gene MTHFR tem sua localização no cromossomo 1p36.3 e é responsável por codificar a proteína 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase (EC 1.5.1.53) (5,10-MTHF), catalisadora para a reação de redução de 5,10-MTHF (5,10-metilenotetrahidrofolato) para 5-MTHF (5-metiltetrahidrofolato) (MATTHEWS,1986). Esta foi denominada termolábil graças a sua instabilidade ao ser submetida a altas temperaturas em ensaios *in vitro*, e as pessoas que apresentam a 5-MTHF possuem apenas 50% da atividade enzimática normal, conseqüentemente levando a um quadro de hiperhomocisteinemia (DUTRA, 2012). A partir do produto da reação, o 5-MTHF, também conhecido como L-metilfolato, mediará a formação da serotonina, dopamina e norepinefrina ao atravessar a barreira hematoencefálica, além de promover a metilação da metionina em homocisteína (BRAILOVA et al., 2020; SALAMONE, 2022).

Devido a sua importância no metabolismo do folato, o gene MTHFR está associado a outras patologias como, por exemplo, a presença do polimorfismo A1298C e sua associação com defeitos de fechamento do tubo neural (DTNs) (malformações congênitas que ocorrem devido a uma falha no fechamento adequado do tubo neural embrionário) (DE MARCO et al., 2002). Os portadores do polimorfismo patogênico apresentam um espectro clínico variável, com manifestações clínicas comuns relacionadas à ocorrência de anencefalia e a espinha bífida. Nesses casos, é recomendável o aconselhamento genético-clínico para discutir as implicações diretas e indiretas de ser portador(a) e as implicações para uma gravidez de risco. As orientações clínicas voltadas para a gravidez estão relacionadas principalmente com preocupações associadas ao risco de insuficiência na suplementação adequada do feto com a forma molecular de 5-MTHF (DE MARCO et al., 2002).

As duas reações metabólicas associadas à homocisteína são transulfuração e remetilação. A reação de transulfuração é a condensação da homocisteína com a serina, formando a cistationina. Já na reação de remetilação há a reversão da

homocisteína em metionina (DUTRA, 2012). Quando estas vias são inibidas devido à ausência de vitaminas ou de enzimas cruciais ao seu metabolismo, o resultado será o acúmulo do aminoácido no plasma, levando à hiperhomocisteinemia, que é o causador do dano endotelial que sucede o evento de TV (MATTHEWS, 1986; FRANCO, 2001; AMARAL, 2012; DUTRA, 2012). Variantes gênicas associadas à hiperhomocisteinemia estão intimamente correlacionadas a casos de trombose. Essas manifestações patológicas associam-se a defeitos genéticos em enzimas que participam do metabolismo da homocisteína.

Pacientes portadores das variantes genéticas rs1801133 (MTHFR C677T) e rs1801131 apresentam uma atividade reduzida da enzima MTHFR, podendo ter sua redução em 75%, ou até mesmo ter sua função inibida caso o paciente seja homozigoto para ambas as variantes deletérias (BRAILOVA et al., 2020; EBID et al., 2021; SALAMONE, 2022). Polimorfismos no gene MTHFR estão vinculados a diversas patologias já conhecidas como por exemplo, doenças cardiovasculares, trombose, complicações na gravidez, psoríase, maior risco de câncer e de doenças psiquiátricas, cansaço, dores de cabeça, ansiedade e a hiperhomocisteinemia (AMARAL, 2012)

Além do MTHFR ser um dos importantes alvos moleculares para o diagnóstico de TH, há outros genes associados aos processos de coagulação que influenciam diretamente o perfil de herdabilidade para a patologia de TH. Genes já relacionados a mesma incluem: i) PROC, ii) PROS1, iii) SERPINC1, iv) PLG, v) FGG assim como o vi) PAI-1.

2.3 Contribuição Gênica para TH

O gene PROC é uma serina protease dependente de vitamina K, localizado no cromossomo 2 em 2q14~q21, com estrutura molecular de cadeia dupla, responsável por desempenhar um papel regulador na manutenção do equilíbrio hemostático (KATO et al., 1988). Quando em sua forma ativa, é o responsável pela produção da PC (EC 3.4.21.69), esta exerce uma atividade anticoagulante e fibrinolítica, neutralizando a molécula inibidora da ativação plasminogênica. A deficiência de PC (OMIM #612283) é resultado de um padrão de herdabilidade

autossômica dominante, caracterizada por TV com início na infância ou início da idade adulta (KATO et al., 1988).

O gene *PROS1*, localizado no cromossomo 3p11.1. é o encarregado pela produção de PS. Mais de 220 mutações foram encontradas para causar deficiência de PS, e a maioria dessas mutações altera os blocos de construção de proteínas únicas (aminoácidos) na proteína S, o que interrompe sua capacidade de atuar como cofator. A deficiência da PS (OMIM #612336), resulta em TH (TORRES, 2017). O padrão de herdabilidade é autossômico dominante (GARRETT, 2013).

O gene *SERPINC1*, localizado no cromossomo 1q23-25 e é responsável pela produção de ATIII, que é o inibidor mais importante da trombina e de outras proteinases da coagulação, mutações neste gene dão origem a deficiências de ATIII (OMIM #613118) (BROUWER et al., 2009). A ATIII atua na regulação da formação de coágulos tanto inibindo diretamente a atividade da trombina quanto interferindo nos estágios iniciais da cascata de coagulação, sendo fundamental nos estudos de TH (BROUWER et al., 2009).

Os genes plasminogênicos (PLG) estão localizados no cromossomo 6q26 estão envolvidos no processo de coagulação via atividade fibrinolítica, e sua ação se inicia através dos ativadores de plasminogênio (PLA), a conversão de plasminogênio em plasmina envolve a clivagem da ligação peptídica entre Arg-561 e Val-562 (CUNNINGHAM & JW, 2005). A clivagem da plasmina também libera a proteína angiostatina que inibe a angiogênese. A plasmina degrada muitas proteínas do plasma sanguíneo, incluindo coágulos sanguíneos contendo fibrina, removendo o excesso de fibrina intravascular (MEHTA, 2008). O excesso destes produtos não degradados devido a deficiência de PLG (OMIM #217090), predispõe o indivíduo a um desequilíbrio na cascata de coagulação, gerando os quadros trombofílicos (SCHUSTER, HÜGLE e TEFS, 2007).

O fibrinogênio gama (FGG) tem sua localização em 4q32.1 e é de grande importância no processo de coagulação devido a sua função como agente de conversão de fibrinogênio em fibrina induzida pela trombina, processo essencial para o equilíbrio hemostático (UITTE et al., 2007). Os distúrbios hereditários do FGG afetam a quantidade (afibrinogenemia e hipofibrinogenemia, OMIM #202400) ou a qualidade (disfibrinogenemia, OMIM# 616004) do fibrinogênio circulante, alguns dos

sintomas comuns aos pacientes acometidos por distúrbios do FGG são diátese hemorrágica e complicações tromboembólicas (NEERMAN-ARBEZ, 2006).

O gene do Fator II (FII), tem sua localização em 11p11.2, este, fornece as instruções necessárias para a produção de PT (também chamada de fator de coagulação II) (DANCKWARDT et al., 2006). A mutação que causa a maioria dos casos de TH altera um nucleotídeo no gene FII, causando a mutação G20210A ou 20210G>A). Essa mutação leva à produção de muita protrombina (OMIM #176930) (DANCKWARDT et al., 2006).

O gene do Fator V (FV), tem sua localização em 1q24.2, responsável pela produção de uma proteína relacionada ao sistema de coagulação, inclusa em uma série de reações químicas que formam os coágulos sanguíneos (ASSELTA e PEYVANDI, 2009). O FV foi primeiro gene a ser correlacionado com trombofilias hereditárias (OMIM #188055). o FV em heterozigose apresenta um aumento de desenvolvimento de th em 10% e em homozigose em 80%. acredito que seja importante citá-lo também (ASSELTA e PEYVANDI, 2009).

O gene do fator IX tem sua localização em Xq27.1, e também é conhecido como hemofilia C (OMIM #300746), se trata de um fator de coagulação sanguínea estável envolvido na via intrínseca (BELCZAK et al., 2012). A hemofilia é uma doença hemorrágica hereditária ligada ao cromossomo X, e os portadores desta doença geralmente apresentam tempo de atividade da protrombina normal ou alargado, e o tempo de trombina normal (ZOGG e BRANDSTETTER, 2009). Quanto menor a dosagem do fator XI, mais grave é o distúrbio hemorrágico do paciente, portanto sendo indispensável um maior cuidado quando se faz necessário um procedimento médico/cirúrgico mais invasivo, considerando a gravidade dos efeitos hemorrágicos destes (BELCZAK et al., 2012).

Tabela 1 - Resumo das informações dos genes que contribuem para TH.

Gene	Localização no Genoma	Função	Variante Patogênicas	Efeitos Clínicos
PROC	2q14~q21	Produção de PC e regula a manutenção do equilíbrio hemostático	Trombofilia 3 por deficiência de proteína C, autossômica dominante e recessiva	Deficiência de PC tipo I - com níveis reduzidos da proteína; Deficiência de PC tipo II - com redução da

				atividade da proteína
PROS1	3p11.1	Produção de PS que é importante para controlar a coagulação do sangue	Trombofilia 5 por deficiência de proteína S, autossômica dominante; e autossômica recessiva	Episódios trombóticos, AVC, hemorragias
SERPINC 1	1q23-25	Produção de AT que é um tipo de inibidor de serina protease	Trombofilia 7 por deficiência de antitrombina III	Aumenta o risco de coágulos sanguíneos anormais
PLG	6q26	Produção de PLG que é responsável pela conversão deste em plasmina, que decompõe a fibrina	Angioedema, hereditário, 4; Displasminogenemia; Deficiência de plasminogênio, tipo I	Crescimentos duros nas membranas mucosas, que são os tecidos úmidos que revestem as aberturas do corpo, como as pálpebras e o interior da boca
FGG	4q32.1	Fornece instruções para fazer a cadeia gama (γ) do fibrinogênio, uma subunidade da proteína do fibrinogênio	Afibrinogenemia, hipofibrinogenemia, disfibrinogenemia ou hipodisfibrinogenemia	Sangramento excessivo devido à ausência da proteína fibrinogênio no sangue
FV	1q24.2	Produção do fator de coagulação V que compõem o sistema de coagulação	Deficiência de fator V; Trombofilia 2 devido à resistência à proteína C ativada; FVL; deficiência do fator V; Perda recorrente de gravidez; AVC	Uma quantidade reduzida de fator V funcional impede que o sangue coagule normalmente, causando episódios de sangramento anormal que podem ser graves
		Produção da proteína fator de	Deficiência hereditária de	Sangramento excessivo; As

Fator IX	Xq27.1	coagulação IX que compõem o sistema de coagulação	antitrombina; Hemofilia e hipersensibilidade a um medicamento chamado varfarina	mutações mais comuns alteram os blocos de construção do DNA (pares de bases) no gene
----------	--------	---	---	--

Fonte: Autoria Própria.

2.4 Diagnósticos moleculares

Conforme Shaker, Thomas e Shalabi (2021) relataram, atualmente, para minimizar erros no diagnóstico, os testes são realizados de forma repetitiva, quando o paciente não está em terapia anticoagulante, para evitar os desconfortos ocasionados pelo processo terapêutico e evitando os custos financeiros envolvidos (ASSAF et al., 2021).

Dessa forma, de acordo com a Portaria Conjunta nº 23 de 21 de Dezembro de 2021, o Brasil possui uma série de etapas para que faça a condução das investigações em um paciente com suspeita de episódio de trombofilia. Os exames geralmente incluem ensaios de AT, PC e PS, testes de resistência a APC e/ou FVL, assim como mutação G20210A no gene da protrombina, dosagem de proteína C funcional e APS (GUIMARÃES et al., 2009).

Segundo o Ministério da Saúde (2020), a condução dos ensaios clínicos deve ser realizada em duas ou mais etapas, no período mínimo de 12 semanas, realizando-se testes com anticoagulante lúpico detectado de acordo com as recomendações da Sociedade Internacional de Trombose e Hemostasia (ISTH), ou anticardiolipinas IgG ou IgM em títulos moderados (>40 unidades de GPL/MPL) a altos (>80 unidades de GPL/MPL) mensurados por teste ELISA padronizado. Ademais, pode-se ainda ser realizado o teste anti-beta2glicoproteína1 IgG ou IgM acima do percentil 99 mensurada por teste ELISA padronizado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Para o diagnóstico de mutações para o gene MTHFR, realiza-se a genotipagem do polimorfismo A1298C via técnica de PCR alelo-específico (LIMA, 2017), usualmente recomendado para pacientes com baixa concentração nos níveis de hemoglobina e níveis elevados de homocisteína (NOGUEIRA et al., 2018).

Ademais, apesar de haver um protocolo de experimentação no sistema de saúde brasileiro, não foi desenvolvido nenhum trabalho científico que visasse o

levantamento das informações que pudessem esclarecer quais são os perfis moleculares associados a TH no Brasil. Sendo necessária uma melhor análise sobre a incidência dos genes causadores de eventos trombóticos mais encontrados na população brasileira.

2.5 Tratamentos das trombofilias

O rastreio laboratorial para diagnóstico das trombofilias deve ser realizado concomitante ao diagnóstico clínico de um evento trombótico, seja por ultra-sonografia ou venografia nos casos de TVP, ou cintilografia de ventilação/perfusão nos casos de embolia pulmonar (EP), geralmente indicada a terapêutica com heparina de baixo peso molecular por, pelo menos, cinco dias, e o uso de anticoagulante oral iniciado nas primeiras 24 horas após o episódio (AMARAL, 2012). Porém, para um tratamento mais efetivo recomenda-se a investigação e aconselhamento genéticos (FRANCO, 2001).

O tratamento profilático ainda possui suas deficiências. Segundo Rendrik F. Franco (2001), o tratamento usual para as trombofilias ainda é o tratamento hormonal para controle dos fatores de coagulação. Porém, em casos de trombozes em gestantes, este tratamento pode ser prejudicial para o desenvolvimento fetal (DICK-GUARESCHI et al., 2021). Busca-se, dessa forma, tratamentos alternativos eficazes (FRANCO, 2001). Um dos principais problemas relacionados ao tratamento hormonal está relacionado com a hemorragia (LIMA, 2017). A hemorragia pode ocorrer em qualquer local do organismo, principalmente na presença de fatores de risco como lesões orgânicas suscetíveis a sangramentos, procedimentos invasivos ou uso de associações medicamentosas que afetam a coagulação (BATES, 2013). A continuidade dos medicamentos de anticoagulação devem sempre ser avaliados pelo médico responsável (AMARAL, 2012).

A condução do aconselhamento genético é um dos fatores indispensáveis para os portadores de TH, uma vez que há um risco iminente durante a gestação fetal tanto para o feto quanto para a mulher (BATES, 2013). É necessário uma condução investigativa avaliando-se o histórico familiar de susceptibilidade a TH e o esclarecimento dos fatores de risco associados à condição, fornecendo uma base de maior confiabilidade e adesão ao tratamento (PINA-NETO, 2008).

3 METODOLOGIA

Para a realização da presente revisão bibliográfica foram seguidos cinco passos: 1- Seleção das palavras chaves; 2- Busca nas bases de dados; 3- Coleta de dados; 4- Análise dos artigos incluídos e 5- Apresentação dos dados na forma de tabela com os principais resultados e conclusões.

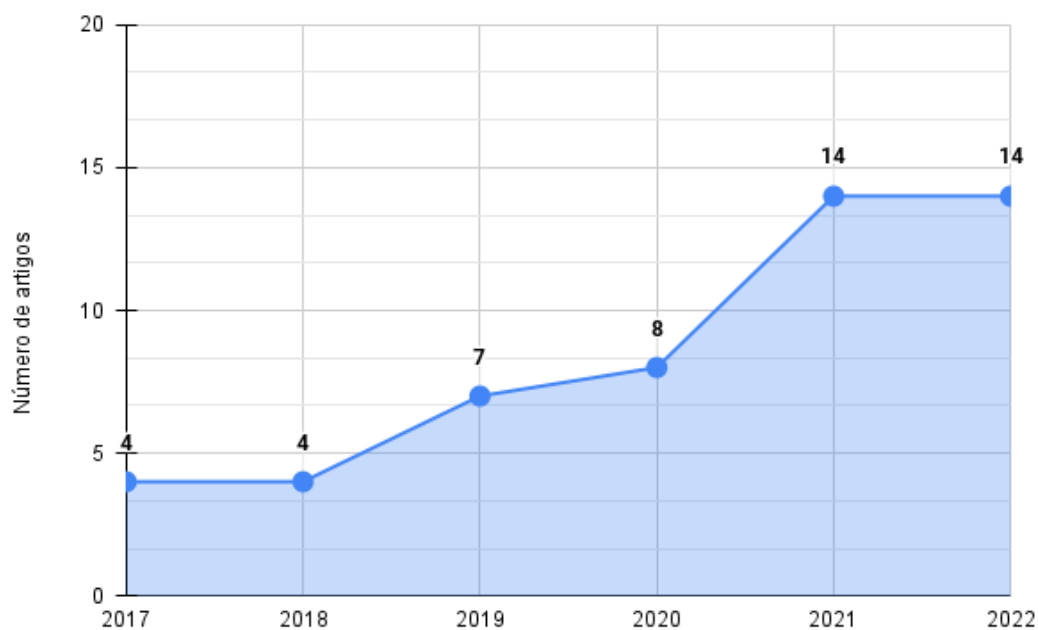
O levantamento dos artigos na literatura foi feito por meio de busca nos bancos de dados eletrônicos Portal Regional da BVS, Science Direct, e Portal de Periódicos CAPES. Foram adotados os seguintes critérios para a seleção dos artigos: i) delimitação para escolha de artigos de base experimental; ii) com delimitação idiomática em inglês e português; iii) delimitação temporal de publicação de janeiro de 2017 e março de 2022. O levantamento foi realizado utilizando os seguintes descritores: “*Hereditary thrombophilias*”, “*molecular analysis*” e “*diagnosis for thrombophilia*”. Foi usado o operador booleano “AND” para associar os descritores nas bases de dados.

A tabulação dos dados abordaram os seguintes aspectos: Título da pesquisa, autores, base de dados, ano de publicação e principais metodologias. A análise dos artigos foi realizada por meio da leitura completa e seleção dos dados relevantes sobre diagnósticos moleculares via análise de gene MTHFR.

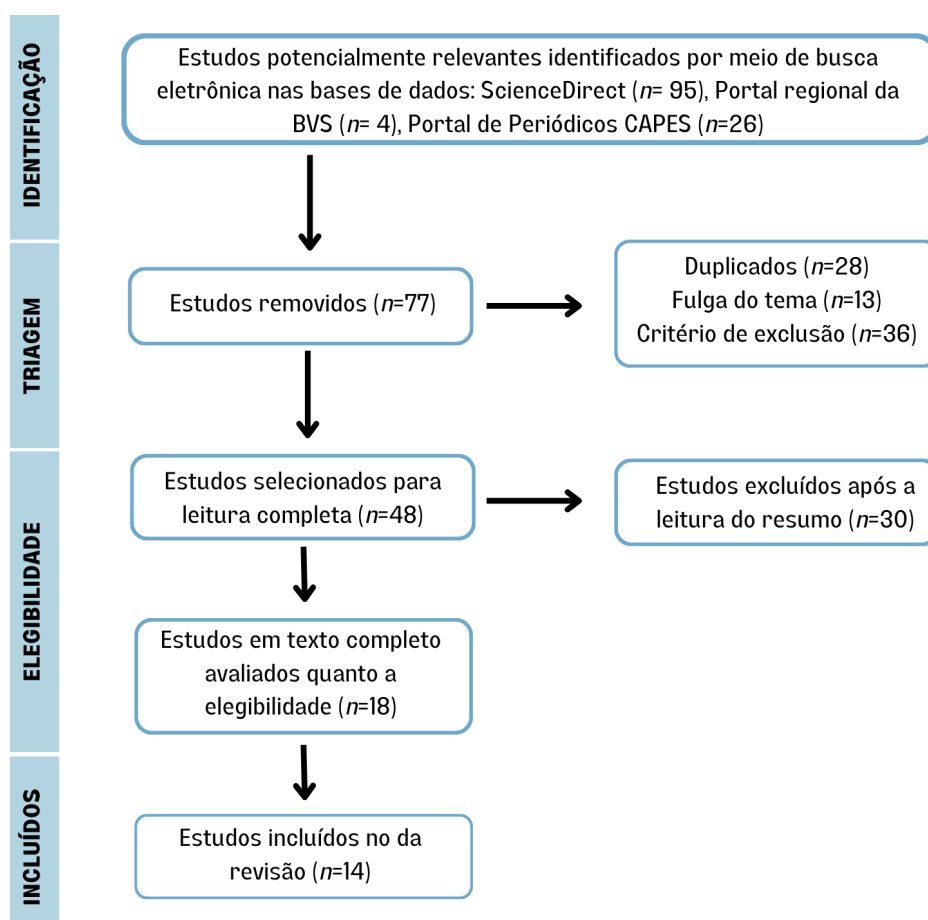
4 RESULTADOS

Foram encontrados, inicialmente, 125 artigos. Dos quais 48 utilizavam no texto as palavras-chaves selecionadas. Após a leitura do título e resumo, 18 artigos foram selecionados para a leitura na íntegra, dos quais 14 compuseram a amostra de artigos localizados nas bases de dados eletrônicos Portal Regional da BVS, Science Direct e Portal de Periódicos CAPES, publicados entre os anos de 2017 e 2022 (Figura 1; Tabela 1). Os artigos selecionados estão organizados na Tabela 2.

Foi observado um aumento gradativo de artigos publicados (Gráfico 1), principalmente no ano de 2021, interrompido no início da pandemia por COVID-19.

Gráfico 1 - Gráfico de acréscimo por ano.

Fonte: Autoria Própria.

Fluxograma 1 - Esclarecimento do processo de seleção de artigos para revisão.

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 2 - Artigos encontrados para cada palavra-chave e sua combinação booleana.

Base de dados	Título 1	Título 2	Op. Booleano	Nº de artigos
Portal Regional da BVS	Hereditary thrombophilias	Molecular analysis	AND	2
Science Direct	Hereditary thrombophilias	Molecular analysis	AND	12
Portal de Periódicos CAPES	Hereditary thrombophilias	Molecular analysis	AND	0

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 3 - Resumo das informações dos artigos selecionados.

Título da pesquisa	Autor	Base de dados	Ano de publicação	Principais metodologias empregadas
Targeted next-generation sequencing reveals novel and known variants of thrombophilia associated genes in Saudi patients with venous thromboembolism	ATHAR, Mohammad et al.	ScienceDirect	Agosto de 2021	Testes moleculares realizados para mutação negativa do Fator V Leiden (FVL) usando o sequenciamento Ion Torrent Next Generation (NGS)
Prevalence of thrombophilia-associated mutations and their clinical significance in a large cohort of Lebanese patients	ASSAF, Nada et al.	ScienceDirect	Setembro de 2021	Testes moleculares realizados para Fator V (Fator V Leiden, G1691A), Fator II (G20210A) e MTHFR (C677T)
Evaluating the role of inherited thrombophilia genes with recurrent pregnancy loss among Egyptian couples	SHAKER, Mai M.; THOMAS, Manal M.; SHALABI, Taghreed A.	ScienceDirect	Dezembro de 2021	Foram analisadas três mutações trombofílicas FVL, Protrombina G20210A e gene MTHFR A1298C

Genetic risk factors for venous thromboembolism among infertile men with Klinefelter syndrome	HUSSEIN, Tarek M. et al.	ScienceDirect	Junho de 2020	Testes moleculares realizados utilizando método de hibridização reversa Multiplex PCR
Dysfunctional fibrinolysis and cerebral venous thrombosis	PRABHUDESAI, Aniket et al.	ScienceDirect	Junho de 2017	Testes moleculares realizados para marcadores de trombofilia convencionais que incluíam PC, PS, AT e mutação do FVL
The prevalence and clinical manifestation of hereditary thrombophilia in Korean patients with unprovoked venous thromboembolisms	LEE, Su Yeon et al.	BVS	Outubro de 2017	PCR para deficiências de PC, PS, AT e PLG para amplificação dos genes <i>ROC</i> , <i>PROS1</i> , <i>SERPINC1</i> e <i>PLG</i>
An Unexpectedly High Rate of Thrombophilia Disorders in Patients with Superficial Vein Thrombosis of the Lower Extremities	SOBREIRA, Marcone Lima et al.	BVS	Maio de 2017	Mutações do fator V Leiden e fator II G20210 A (protrombina), PC, PS, deficiência de antitrombina, presença de anticoagulante lúpico, títulos de anticorpos anticardiolipina
Prevalence of thrombophilia-associated genetic risk factors in blood donors of a regional hospital in southern Brazil	DICK-GUARESCHI, Jéssica et al.	ScienceDirect	Março de 2021	Análise de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) usando PCR em Tempo Real para FV, FII e MTHFR (g.677C > T e g.1298A > C)

Inherited thrombophilia and pregnancy loss. Study of an Argentinian cohort	WINGEYER, Silvia Perés et al.	ScienceDirect	Abril de 2019	Genotipagem das variantes por PCR em tempo real para FVL, Fator II G20210A, e genotipagem por técnicas de PCR-RFLP para G20210A, FGG10034T, FXI7872T e -675 4G/5G PAI-1
SERPINC1 variants causing hereditary antithrombin deficiency in a Danish population	KJAERGAARD, Alisa D. et al.	ScienceDirect	Março de 2019	Sequenciamento de Sanger, análises de amplificação de sonda multiplex e genotipagem para o fator V Leiden
Antithrombin Debrecen (p.Leu205Pro) – Clinical and molecular characterization of a novel mutation associated with severe thrombotic tendency	SELMECZI, Anna et al.	ScienceDirect	Outubro de 2017	Sequenciamento direto do gene SERPINC1, Western blotting, ELISA e ensaio amidolítico funcional para AT
Natural anticoagulant deficiencies in Thais: A population-based study	ROJNUCKARIN, Ponlapat et al.	ScienceDirect	Junho de 2019	Testes para atividade de PC e PS livres, sequenciamento direto e amplificação de sonda dependente de ligação multiplex (MPLA) <i>PROS1</i>
ADAMTS13 activity, high VWF and FVIII levels in the pathogenesis of deep vein thrombosis	PAGLIARI, Maria Teresa et al.	ScienceDirect	Junho de 2021	Atividade plasmática de ADAMTS13 usou o ensaio FRET-S-VWF73, foram usados imunoensaio e ensaio de coagulação de um estágio (analisador ACL

				TOP) para medir FVWF:Ag e FVIII:C
Role and Mechanism of mir-5189-3p in Deep Vein Thrombosis of Lower Extremities	LU, Jing; FANG, Qingbo; GE, Xiaohu	ScienceDirect	Novembro de 2021	Western blot foi usado para detectar a expressão das proteínas Bax e Bcl-2. A PCR quantitativa em tempo real foi usada para detectar mRNA de JAG1, Notch1 e Hes1

Fonte: Autoria Própria.

Tabela 4 - Resumo das informações dos genes analisados.

Gene identificado	Mutação	Artigo de Referência
Fator V de Leiden	Fator V (VF) (g.1691G>UMA)	Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Prabhudesai et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Dick-Guareschi et al. (2021); Wingeyer et al. (2019); Kjaergaard et al. (2019); Hussein et al. (2020)
AT, PC e PS	Dosagem funcional de AT, dosagem funcional de proteína C, dosagem imunológica de proteína S livre	Athar et al. (2021); Prabhudesai et al. (2017); Lee et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Wingeyer et al. (2019); Rojnuckarin et al. (2019)
Protrombina	G20210A	Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Lee et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Dick-Guareschi et

		al. (2021); Wingeyer et al. (2019); Hussein et al. (2020)
MTHFR	g.677C>T e g.1298A>C	Assaf et al. (2021); Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Dick-Guareschi et al. (2021); Hussein et al. (2020)
PROS1	rs6122 e rs766423432	Athar et al. (2021); Lee et al. (2017); Rojnuckarin et al. (2019)
PROC	HNF6	Lee et al. (2017)
SERPINC1	p.Leu205Pro	Lee et al. (2017); Kjaergaard et al. (2019); Selmecezi et al. (2017)
PLG	deficiência de plasminogênio tipo I (217090)	Lee et al. (2017)
FGG	FGG10034T	Wingeyer et al. (2019)
Fator IX	7872C/T	Wingeyer et al. (2019)
ADAMTS13	FVWF:Ag e FVIII:C	Pagliari et al. (2021)
JAG1, Hes1 e Notch1	miR-5189-3p	Lu, Fang, e Ge (2021)

Fonte: Autoria Própria.

A análise do Fator V de Leiden foi realizada pelos autores Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Prabhudesai et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Dick-Guareschi et al. (2021); Wingeyer et al. (2019); Kjaergaard et al. (2019) e Hussein et al. (2020). Estes analisaram a região Fator V (VF) (g.1691G>UMA) via RT-qPCR.

A análise de AT, PC e PS foi realizada pelos autores Athar et al. (2021); Prabhudesai et al. (2017); Lee et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Wingeyer et al.

(2019) e Rojnuckarin et al. (2019). Estes realizaram testes moleculares realizados com RT-qPCR para marcadores de trombofilia convencionais que incluíam PC, PS, AT para verificação de sua análise funcional.

O gene da Protrombina foi analisado por Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Lee et al. (2017); Sobreira et al. (2017); Dick-Guareschi et al. (2021); Wingeyer et al. (2019) e Hussein et al. (2020), para a mutação G20210A. Todos os autores utilizaram o método de RT-qPCR com exceção de Hussein et al. (2020), que utilizou método de hibridização reversa Multiplex PCR em combinação com CVD Strip Assays.

O gene MTHFR foi analisado por Assaf et al. (2021); Shaker, Thomas e Shalabi (2021); Athar et al. (2021); Dick-Guareschi et al. (2021) e Hussein et al. (2020) para as mutações g.677C>T e g.1298A>C. Todos os autores utilizaram o método de RT-qPCR com exceção de Athar et al. (2021) que realizou a análise do gene através de sequenciamento Targeted next-generation.

O gene PROS1 foi analisado por Athar et al. (2021); Lee et al. (2017) e Rojnuckarin et al. (2019) para as mutações rs6122 e rs766423432. Todos os autores utilizaram como metodologia o RT-qPCR com exceção de Rojnuckarin et al. (2019) que utilizou amplificação de sonda dependente de ligação multiplex (MPLA).

A análise do gene PROC foi realizada por Lee et al. (2017) para a mutação HNF6 utilizando sequenciamento de DNA dos genes que causam déficits em anticoagulantes naturais.

A análise do gene SERPINC1 foi realizada por Lee et al. (2017); Kjaergaard et al. (2019) e Selmeczi et al. (2017) para a mutação p.Leu205Pro. Todos os autores realizaram a análise RT-qPCR com exceção de Selmeczi et al. (2017) que realizou o sequenciamento direto do gene SERPINC1, Western blotting, ELISA e ensaio amidolítico funcional para AT.

A análise do gene PLG foi realizada por Lee et al. (2017) para deficiência de plasminogênio tipo I (217090) utilizando sequenciamento de DNA dos genes que causam déficits em anticoagulantes naturais.

O gene FGG foi analisado por Wingeyer et al. (2019) para a mutação FGG10034T realizada utilizando o método de RT-qPCR.

O gene do Fator IX foi analisado por Wingeyer et al. (2019) para a mutação 7872C/T realizada utilizando o método de RT-qPCR.

O gene ADAMTS13 foi analisado por Pagliari et al. (2021) para a mutação FVWF:Ag e FVIII:C utilizou o ensaio FRETs-VWF73, assim como imunoensaio e ensaio de coagulação de um estágio (analisador ACL TOP).

Os genes JAG1, Hes1 e Notch1 foram analisados por Lu, Fang, e Ge (2021) Western blot foi usado para detectar a expressão das proteínas Bax e Bcl-2. A PCR quantitativa em tempo real foi usada para detectar mRNA dos supramencionados genes.

5 DISCUSSÃO

5.1 Diagnósticos moleculares

Ademais, quando identificamos as diversas causas genéticas/adquiridas que podem ocasionar as TH, fica evidente a importância do diagnóstico molecular precoce, já que este processo detecta as mutações genéticas mais comuns relacionadas à trombose e permite estruturar um programa de aconselhamento genético e orientação familiar para determinar com precisão a condição genética da doença, seja ela hereditária ou adquirida. Sua grande vantagem é a prevenção de efeitos pré e pós-trombóticos, como no caso de pacientes em estado gestacional, a perda recorrente da gestação. Os dados do exame disponibilizam informações importantes quanto às características da doença, riscos de recorrência, modalidades de transmissão genética e diagnóstico pré e pós-natal para gestantes.

Das diversas vantagens que o conhecimento prévio da condição hereditária que um paciente possui pode trazer, um dos mais importantes é o aconselhamento genético para estes e sua família. Principalmente a despeito da elucidação de dúvidas que podem surgir no decorrer da vida de uma mulher acometida com TH, já que nas três fases da vida destas: i) o início da vida sexual e o uso de anticoncepcionais; ii) o planejamento de uma gravidez e o risco que esta pode trazer assim como iii) a reposição hormonal na menopausa. Verifica-se, então, a importância que o rastreio e aconselhamento genético tem na vida daqueles que possuem um quadro trombofílico. Além disso, considerando que alguns dos genes que predisõem as TH tem caráter recessivo, realizar o rastreio desta em ambos os

envolvidos no processo de reprodução é de suma importância para evitar abortos de repetição.

5.2 Alelos gênicos para o diagnóstico molecular e suas particularidades nacionais

Apesar dos avanços no campo diagnóstico de trombofilias hereditárias, esta continua a ser uma das mais significativas causas de morte evitável em ambiente hospitalar (ALVES, ALMEIDA & BALHAU, 2015). O diagnóstico e início do tratamento adequado são cruciais para evitar complicações como a morte do paciente, ou a síndrome pós-trombótica.

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2019), que realiza a divulgação anual dos dados epidemiológicos sobre o perfil dos pacientes com coagulopatias hereditárias no Brasil, o número de pacientes relatados no ano de 2019 mais que dobrou para 27.989 desde o primeiro relatório publicado em 2007 (BRASIL, 2007; BRASIL, 2019).

A partir desse perfil epidemiológico, fica evidente a importância de desenvolver um painel de diagnóstico que possa ser aplicado a diversos centros laboratoriais, pois, possuir um apanhado dos principais genes para TH que afetam a população brasileira, considerando sua intensa miscigenação, estreita os exames que serão priorizados no momento das análises, partindo dos de maior incidência na população retratada, para os de menor incidência na mesma. Facilitando assim o seu diagnóstico e tratamento precoce (ALVES, ALMEIDA & BALHAU, 2015; BRASIL, 2019).

Na região Sul do Brasil, após uma análise realizada com doadores de sangue de um hospital regional, foi verificada uma alta prevalência do FVL, FII e MTHFR (DICK-GUARESCHI et al., 2021). Na região Nordeste também ocorre prevalência do FVL (RAMOS et al., 2006). Em corroboração com as supramencionadas análises, o Sudeste brasileiro apresenta igualmente uma prevalência para os FV e FII (GUIMARÃES et al., 2009).

Já na região Centro-Oeste as trombofilias mais prevalentes foram as deficiências de PS (32%), AT (16%) e PC (13%) (BRASIL, 2012). A região Norte brasileira tem poucos casos documentados, mas as maiores incidências registradas

são para os genes FVL, FII e MTHFR (BRASIL, 2011; BRASIL, 2012; BRASIL, 2015).

Segundo a análise realizada por Dick-Guareschi et al. (2021) as variantes mais frequentemente encontradas entre os polimorfismos de base única (SNP's), estudados em uma população saudável do Sul do Brasil, sem evento anterior de Trombofilia, foram para o gene MTHFR (g.677C>T e g.1298A>C). Em contradição com o que foi relatado pelo Ministério da Saúde, o autor e colaboradores relataram que as variantes menos frequentes foram observadas no FV (g.1691G>A) e no FII (g.20210G>A), variantes presentes apenas em heterozigose. Sendo necessários, portanto, mais estudos acerca da incidência epidemiológica brasileira para corroborar com o presente estudo (DICK-GUARESCHI et al., 2021).

Podemos então, realizar uma correlação entre os dados supramencionados, com as informações levantadas dos principais genes analisados mundialmente (Tabela 4). Assim, temos o seguinte apanhado dos genes que têm uma grande incidência na população brasileira e devem ter sua análise priorizada em centros médicos representados na Tabela 5.

Tabela 5 - Apanhado dos genes com maior incidência na população brasileira e suas regiões.

Gene	Mutação	Região de maior incidência
FVL	g1691G.>A	Região Sul, Norte, Nordeste e Sudeste brasileiro
FII	20210G-A	Região Sul, Norte e Sudeste brasileiro
MTHFR	g.677C>T e g.1298A>C	Região Sul e Norte brasileiro
AT, PC e PS	Dosagem funcional de AT, dosagem funcional de proteína C, dosagem imunológica de proteína S livre	Região Sul, Nordeste, Sudeste, Norte e Centro-Oeste brasileiro
Protrombina	G20210A	Região Sul, Nordeste, Sudeste, Norte e Centro-Oeste brasileiro

Fonte: Autoria Própria.

A partir deste levantamento, o sistema de saúde pode indicar para profissionais do aconselhamento genético os genes de maior incidência na população brasileira, e assim dar um direcionamento para as orientações que serão passadas para os pacientes em análise, sendo esta uma importante ferramenta no processo de norteador, dando suporte para a tomada de decisões.

5.3 Aconselhamento genético no diagnóstico das trombofilias

O aconselhamento genético trata-se do processo mediador na comunicação dos problemas humanos associados à ocorrência ou recorrência de uma doença genética em uma família, ou seja, o profissional responsável por exercer tal função atua como um meio facilitador durante o processo de compreensão do diagnóstico e o este significa (PINA-NETO, 2008). O processo de compreensão faz relação no auxílio ao esclarecimento dos mecanismos etiológicos, avaliação de familiares e auxílio na compreensão dos riscos de ocorrência/recorrência (PINA-NETO, 2008). Além disso, o aconselhamento genético possui importância social fundamental, pois atua como norteador, dando suporte para a tomada de decisões em diversos aspectos da vida do indivíduo-social, esclarecendo dúvidas a respeito da reprodução, uso de anticoncepcionais orais e tratamento, alimentação e o uso de drogas terapêuticas (PINA-NETO, 2008; ASSAF et al., 2021).

6 CONCLUSÃO

A partir do presente estudo, fica evidente a importância de desenvolver um painel de diagnóstico que possa ser aplicado a diversos centros laboratoriais, pois possuir um apanhado dos principais genes para TH que afetam a população brasileira, agiliza a prática clínica em pacientes com suspeita de TH. Conclui-se ainda que os principais genes identificados como causadores de trombos são: i) Fator V de Leiden, ii) AT, iii) PC, iv) PS, v) Protrombina, vi) MTHFR, vii) PROS1, viii) PROC, ix) SERPINC1, x) PLG, xi) FGG e por fim xii) Fator IX. Visa-se então, que o presente trabalho possa ser utilizado como referência na prática clínica e almeja-se que este possa auxiliar para otimizar o processo diagnóstico. A fim de fornecer uma

orientação adequada, garantindo a detecção inicial e tratamento precoce, assim como a manutenção da saúde e menor morbimortalidade da doença.

REFERÊNCIAS

AHANGARI, N. et al. Hereditary thrombophilia genetic variants in recurrent pregnancy loss. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 300, n. 3, p. 777-782, 2019.

ALVES, C. P.; ALMEIDA, C. C.; BALHAU, A. P. **Tromboembolismo Venoso Diagnóstico e Tratamento**. Lisboa: Sociedade Portuguesa de Cirurgia, 2015. 132 p.

ALMEIDA, M. C. et al. TROMBOFILIAS HEREDITÁRIAS E SEU RASTREIO: REVISÃO DE LITERATURA. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 42, p. 77, 2020.

AMARAL, F. M. **Frequência de polimorfismos nos genes da metileno-tetrahidrofolato redutase (MTHFR) e cistationina beta-sintetase (CBS) em pacientes com evento trombótico da rede pública do Distrito Federal/Brasília e sua relação com os níveis de ácido fólico, vitamina B12 e homocisteína**. 2012. 90 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

ASSELTA, R.; PEYVANDI, F. Deficiência do fator V. **Semin Thromb Hemost**. v. 35, n. 4, p. 382-389, 2009.

ASSAF, N. et al. Prevalence of thrombophilia-associated mutations and their clinical significance in a large cohort of Lebanese patients. **Meta Gene**, v. 29, p. 1-6, 2021.

ATHAR, M. et al. Targeted next-generation sequencing reveals novel and known variants of thrombophilia associated genes in Saudi patients with venous thromboembolism. **Clinica Chimica Acta**, v. 519, p. 247-254, 2021.

BATES, S. M. Prevenção de complicações da gravidez relacionadas à trombofilia: uma atualização. **Expert Review of Hematology**, v. 6, n. 3, pág. 287-300, 2013.

BELCZAK, S. Q. et al. Correção endovascular de aneurisma de aorta abdominal e artéria ilíaca comum esquerda em paciente com hemofilia C grave. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 11, n. 1, p. 73-76, 2012.

BRAILOVA, M. et al. Troubles de la reméthylation: à propos de deux cas.: **Annales de Biologie Clinique**, v. 78, n. 8, p. 647-654, 2020.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2007.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2009-2010.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2012.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2013.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2014.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2015.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2016.

Brasil. Ministério da Saúde. **Gabinete do Ministro**. Perfil das Coagulopatias Hereditárias. Brasília, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Prevenção de Tromboembolismo Venoso em Gestantes com Trombofilia, no âmbito do SUS**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020.

BROUWER, J. L. P. et al. High long-term absolute risk of recurrent venous thromboembolism in patients with hereditary deficiencies of protein S, protein C or antithrombin. **Thrombosis and haemostasis**, v. 101, n. 01, p. 93-99, 2009.

CARVALHO, R. A.; SILVA, P. H. da; HENNEBERG, R. n. Incidence of factor VIII inhibitory antibodies in patients with hemophilia A seen at HEMOCE, Ceará, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 52, n. 6, p. 382-386, 2016.

COOPER, P. C.; GOODEVE, A. C.; BEAUCHAMP, N. J. Quality in molecular biology testing for inherited thrombophilia disorders. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, v. 38, n. 6, p. 600-612, 2012.

CORREA, Laura Schleder; TIECHER, Patrícia Budke; DA SILVA, Ivy Reichert Vital. Trombofilia Hereditária e Adquirida em Gestantes. *In*: **CONGRESSO INTERNACIONAL EM SAÚDE**, 6., 2019, Ijuí. Anais eletrônicos [...]. Ijuí: CISAúde, 2019.

CUNNINGHAM, F. G.; JW, Williams. **Williams obstetrics**. 22. ed. New York: McGraw-Hill Professional, 2005.

DAUTAJ, A. et al. Hereditary thrombophilia. **Acta Bio Médica: Atenei Parmensis**, v. 90, n. 10, p. 7-19, 2019.

DA SILVA, S. F. **Importância dos Fatores de Risco não Clássicos na Incidência do Acidente Vascular Cerebral**. 2019) Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade da Beira Interior, Portugal, 2019.

DANCKWARDT, Sven et al. 3' end processing of the prothrombin mRNA in thrombophilia. **Acta haematologica**, v. 115, n. 3-4, p. 192-197, 2006.

DE MARCO, P. et al. Estudo dos polimorfismos MTHFR e MS como fatores de risco para NTD na população italiana. **Jornal de genética humana**, v. 47, n. 6, p. 319-324, 2002.

DICK-GUARESCHI, J. et al. Prevalence of thrombophilia-associated genetic risk factors in blood donors of a regional hospital in southern Brazil. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, p. 1-7, 2021.

DUTRA, C. G. **Variantes genéticas relacionadas a trombofilias em mulheres com perdas gestacionais**. 2012. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

EBID, A. H. IM. et al. High dose methotrexate in adult Egyptian patients with hematological malignancies: impact of ABCB1 3435C> T rs1045642 and MTHFR 677C> T rs1801133 polymorphisms on toxicities and delayed elimination. **Journal of Chemotherapy**, p. 1-10, 2021.

FERREIRA, C. N. et al. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 416-421, 2010.

FISHCHUK, L. et al. Effect of polymorphic variants of hereditary thrombophilia genes on the risk of early pregnancy loss for married couples. **Meta Gene**, v. 29, p. 1-6, 2021.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 34, n. 3/4, p. 229-237, 2001.

FRANCO, R. F. Trombofilias hereditárias. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 34, n. 3/4, p. 248-257, 2001.

FROSST, P. et al. Um candidato a fator de risco genético para doença vascular: uma mutação comum na metilenotetrahidrofolato redutase. **Genética da natureza**, v. 10, n. 1, p. 111-113, 1995.

GARRETT, V. V. da P. V. **Trombofilias hereditárias e complicações obstétricas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Medicina Integrada) – Universidade de Porto, Porto, 2013.

GUIMARÃES, S. P. et al. Mutações predisponentes à trombofilia em indivíduos de Minas Gerais-Brasil com suspeita clínica de trombose. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 19-24, 2009.

HUSSEIN, T. M. et al. Genetic risk factors for venous thromboembolism among infertile men with Klinefelter syndrome. **Journal of clinical & translational endocrinology**, v. 20, p. 1-6, 2020.

KATO, A. et al. Assignment of the human protein C gene (PROC) to chromosome region 2q14 → q21 by in situ hybridization. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 47, n. 1-2, p. 46-47, 1988.

KJAERGAARD, A. D. et al. SERPINC1 variants causing hereditary antithrombin deficiency in a Danish population. **Thrombosis Research**, v. 175, n. 2019, p. 68-75, 2019.

LEE, S. Y. et al. The prevalence and clinical manifestation of hereditary thrombophilia in Korean patients with unprovoked venous thromboembolisms. **PLoS One**, v. 12, n. 10, p. 1-9, 2017.

LIMA, J. S. **Risco de trombose associado à terapia dos anticoncepcionais hormonais**: uma revisão de literatura. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017. (LIMA, 2017)

LU, J.; FANG, Q.; GE, X. Role and Mechanism of mir-5189-3p in Deep Vein Thrombosis of Lower Extremities. **Annals of Vascular Surgery**, v. 77, p. 288-295, 2021.

MACFARLANE, R. G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. **Nature**, v. 202, n. 4931, p. 498-499, 1964.

MARTÍNEZ-CALLE, N.; FERNÁNDEZ, JA. P. Protocolo diagnóstico de trombofilia. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 11, n. 22, p. 1377-1381, 2012.

MATTHEWS, R. G. Methylene tetrahydrofolate reductase from pig liver. **Methods in enzymology**, v. 122, p. 372-381, 1986.

MEHTA R, S. AD. Plasminogen deficiency. **Hemofilia**, v. 14, n. 6, p. 1261-1268, 2008.

MONTENEGRO, Y. H. A. et al. The epigenetics of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in fetal development. **Annals of Human Genetics**, v. 83, n. 4, p. 195-213, 2019.

NAUMAN, N. et al. Low maternal folate concentrations and maternal MTHFR C677T polymorphism are associated with an increased risk for neural tube defects in offspring: a case-control study among Pakistani case and control mothers. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 27, n. 1, p. 253-260, 2018.

NEERMAN-ARBEZ M. Molecular basis of fibrinogen deficiency. **Pathophysiol Haemost Thromb**, v. 35, p. 187-198, 2006.

PAGLIARI, M. T. et al. ADAMTS13 activity, high VWF and FVIII levels in the pathogenesis of deep vein thrombosis. **Thrombosis Research**, v. 197, p. 132-137, 2021.

PINA-NETO, J. M. de. Aconselhamento genético. **Jornal de Pediatria**, v. 84, p. 20-26, 2008.

PRABHUDESAI, A. et al. Dysfunctional fibrinolysis and cerebral venous thrombosis. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 65, p. 51-55, 2017.

RODRIGUES, E. S.; CASTILHO-FERNANDES, A.; FONTES, A. M. Novos conceitos sobre a fisiologia da hemostasia. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 1, p. 218-233, 2012.

ROMA, J. C. Os objetivos de desenvolvimento do milênio e sua transição para os objetivos de desenvolvimento sustentável. **Ciência e cultura**, v. 71, n. 1, p. 33-39, 2019.

ROJNUCKARIN, P. et al. Natural anticoagulant deficiencies in Thais: A population-based study. **Thrombosis Research**, v. 178, p. 7-11, 2019.

SALAMONE, J. D. Suplementação de Folato na Fertilidade e Gravidez: As Vantagens do (6S) 5-Metiltetrahidrofolato. **Terapias alternativas em saúde e medicina**, v. 28, n. 4, pág. 12-17, 2022.

SELMECZI, A. et al. Antithrombin Debrecen (p. Leu205Pro)—Clinical and molecular characterization of a novel mutation associated with severe thrombotic tendency. **Thrombosis Research**, v. 158, p. 1-7, 2017.

SOBREIRA, M. L. et al. An unexpectedly high rate of thrombophilia disorders in patients with superficial vein thrombosis of the lower extremities. **Annals of Vascular Surgery**, v. 43, p. 272-277, 2017.

SCHUSTER, V.; HÜGLE, B.; TEFS, K. Plasminogen deficiency. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 12, p. 2315-2322, 2007.

SHAKER, M. M.; THOMAS, M. M.; SHALABI, T. A. Avaliando o papel dos genes de trombofilia hereditária com perda recorrente de gravidez entre casais egípcios. **Gene Reports**, v. 25, p. 101355, 2021.

TORRES, C. de O. **A relação entre o Tromboembolismo Venoso (TEV) e o ciclo gravídico**. 2017. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2017.

UITTE DE WILLIGE, S. et al. Polymorphism 10034C> T is located in a region regulating polyadenylation of FGG transcripts and influences the fibrinogen $\gamma'/\gamma A$ mRNA ratio. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 5, n. 6, p. 1243-1249, 2007.

WINGEYER, S. P. et al. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. Study of an Argentinian cohort. **Medicina Clínica (English Edition)**, v. 152, n. 7, p. 249-254, 2019.

ZOGG, T.; BRANDSTETTER, H. Mecanismos de ativação do fator de coagulação IX. **Biol Química**, v. 390, n. 5/6, p. 391-400, 2009.