

# **PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM HEMOGRAMAS COM MICROCITOSE E HIPOCROMIA**

**Autor: Guilherme A. D. Queiroz**

## **Resumo**

Dentre as principais hemoglobinopatias prevalentes no Brasil, as anemias hereditárias possuem importante significado clínico e antropológico devido a intensa miscigenação racial. As talassemias, o traço falciforme e a anemia falciforme são as mais prevalentes anemias hereditárias frente a população. Estas diferentes patologias modificam a estrutura globínica das hemoglobinas, originando quadros de anemias persistentes a serem esclarecidas normalmente após tratamento dos pacientes com ferro e outros componentes vitamínicos sem que haja cura da doença. O diagnóstico correto, realizado principalmente pela análise dos índices hematimétricos do hemograma com posterior execução de eletroforese de hemoglobinas, permite ao paciente saber sua condição genética e o caráter hereditário destas anemias, correto manejo clínico e melhora na qualidade de vida dos portadores.

Palavras chave: hemoglobinopatias, anemias hereditárias, hemoglobina, índices hematimétricos

## **Abstract**

Among the main hemoglobinopathies prevalent in Brazil, hereditary anemias have important clinical and anthropological significance due to intense racial miscegenation. The thalassemias, sickle cell trait and sickle cell anemia are the most prevalent hereditary anemias in the population. These different pathologies modify the hemoglobin globin structure, causing persistent anemias to be cleared usually after treatment of patients with iron and other vitamin components without cure of the disease. The correct diagnosis, performed mainly by the analysis of the hematimetric indexes of the hemogram and subsequent execution of hemoglobin electrophoresis, allows the patient to know their genetic condition and the hereditary character of these anemias, correct clinical management and improvement in the quality of life of the patients.

Key words: hemoglobinopathies, hereditary anemias, hemoglobin, hematimetric indexes

## Introdução

As anemias hereditárias são as doenças genéticas com maior frequência na população brasileira. As miscigenações raciais ocorridas entre os nativos, escravos africanos e colonizadores europeus, árabes e orientais produziram características antropológicas únicas em nossa sociedade<sup>1,2</sup>. Entre os diferentes tipos de anemias hereditárias, as hemoglobinopatias distribuem-se pelo território brasileiro de acordo com a composição étnica de cada região<sup>3</sup>.

Devido a mutações, inserções ou deleções estruturais nos genes reguladores das globinas humanas ocorre formação inadequada ou insuficiente das cadeias globínicas, originando hemoglobinas com estruturas químicas diferentes a normalidade. Deste processo originaram-se, principalmente, as beta e alfa talassemia, Hb C e Hb S<sup>4</sup>.

As talassemias se devem a deleções, inserções ou mutações de um ou mais genes responsáveis pela codificação das cadeias globínicas, ocorrendo ausência parcial ou total de cadeias alfa ( $\alpha$ ) ou beta ( $\beta$ )<sup>5</sup>. A hemoglobina S deriva de uma mutação na cadeia globínica  $\beta$ , havendo substituição do ácido glutâmico pelo aminoácido valina; a hemoglobina C possui o mesmo processo fisiopatológico, porém havendo substituição do ácido glutâmico pelo aminoácido lisina<sup>6,7</sup>.

As condições clínicas causadas por estas diferentes alterações na hemoglobina humana diferem em grau e intensidade, uma vez que em casos de pacientes heterozigotos pode não haver manifestação clínica. Portanto, o diagnóstico precoce se faz necessário por permitir conhecer as condições genética e clínica do indivíduo<sup>8</sup>.

De modo a facilitar o diagnóstico destas patologias foi criada a Portaria nº 822/2001 pelo Ministério da Saúde. Esta portaria determina a realização da triagem em recém-nascidos de variadas doenças ligadas a transmissão genética, estando entre elas as hemoglobinopatias. O rastreamento realizado nesta triagem permitiu avaliar a incidência e a frequência destas anemias frente a população brasileira; este protocolo, portanto, garantiu às pessoas a conscientização de sua condição genética, permitindo aos casais o

planejamento na formação de sua prole, além de melhor manejo clínico dos pacientes e melhorar a qualidade de vida destes<sup>9</sup>.

Mesmo com os programas governamentais e o desenvolvimento científico ainda há um número considerável de portadores não esclarecidos. Isso se deve, geralmente, ao desconhecimento e/ou descaso dos diferentes profissionais de saúde quanto a essas doenças. Na rotina laboratorial da instituição onde esta pesquisa foi realizada, verificou-se a elevada prevalência de pacientes com valores de hemoglobina normais com microcitose e hipocromia e muitos casos onde há anemias de diferentes intensidades a serem esclarecidas, principalmente após o tratamento empírico por parte dos médicos com o uso de ferro sem que haja cura. Deste modo, este trabalho teve por objetivo realizar o diagnóstico laboratorial da presença das diferentes anemias hereditárias frente a uma população atendida em um laboratório de Análises Clínicas na cidade de Apucarana, região norte do estado do Paraná.

## **Materiais e Métodos**

Para a realização deste trabalho foram selecionadas 100 amostras de sangue total colhidas por punção venosa e acondicionadas em tubos contendo anticoagulante EDTA. As amostras foram escolhidas aleatoriamente, não sendo levado em conta grupo racial, faixa etária, condição clínica e gênero sexual.

Inicialmente as amostras foram catalogadas aferindo sexo e idade dos pacientes. Realizou-se a análise do hemograma das amostras em aparelho de hematologia automatizado XS1000i-Systemex®. Confeccionou-se lâminas por extensão sanguínea coradas pela coloração May Grunwald-Giemsa de todas as amostras, aferindo a morfologia celular; as amostras que apresentaram anemia, microcitose e/ou hipocromia e alteração morfológica foram submetidas a análise em lâmina por meio de esfregaço italiano.

Posteriormente as amostras foram submetidas a eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino por aplicação em acetato de celulose; as amostras positivas para o genótipo S foram analisadas em pH ácido em gel de agarose para confirmação. As hemoglobinas variantes detectadas foram quantificadas por eluição. Estas

análises foram realizadas no Laboratório de Hemoglobinopatias do CDA-Naoum Laboratório de Análises Clínicas de São José do Rio Preto, SP.

Ao final dos testes foram analisados os dados encontrados e constatadas as anemias hereditárias detectadas frente aos pacientes analisados de acordo com a metodologia empregada.

## Resultados

No período de abril a julho de 2018 foram testadas para a presença de hemoglobinas variantes 100 amostras de sangue total de pacientes atendidos no Laboratório São Marcos de Análises Clínicas de Apucarana, estado do Paraná.

Estes pacientes estavam realizando exames de rotina, sem necessidade de urgência ou emergência quanto ao prazo para entrega de resultados de seus exames, sendo a sua maioria exame de checagem periódica. Em grande parte dos motivos para a realização dos exames constava a necessidade médica de investigar anemias discretas sem cura após tratamento empírico e esclarecimento de sintomas comuns a processos anêmicos.

Do total analisado constatou-se que 24 amostras apresentaram alteração nas hemoglobinas, sendo observada a presença de diferentes genótipos de anemias hereditárias, conforme mostra a tabela 1.

**Tabela 1.** Quantidade de amostras alteradas

| Tipo de Hb   | Número de amostras | %   |
|--------------|--------------------|-----|
| AA (Normal)  | 76                 | 76  |
| AH           | 15                 | 15  |
| A2 aumentada | 5                  | 5   |
| AS           | 2                  | 2   |
| AS H         | 2                  | 2   |
| Total        | 100                | 100 |

Das 24 amostras que apresentaram alteração verificou-se que 62,5% apresentaram alteração genotípica para hemoglobina H (talassemia alfa), 20,83% apresentaram alteração genotípica para hemoglobina A2 aumentada (talassemia beta), 8,3% apresentaram alteração genotípica para hemoglobina

AS (traço falciforme) e 8,3% para alteração genotípica com associação entre hemoglobina AS e hemoglobina H (ASH) conforme a tabela 2.

**Tabela 2.** Distribuição das hemoglobinas variantes

| Tipo de Hb   | Número de amostras | %     |
|--------------|--------------------|-------|
| AH           | 15                 | 62,5  |
| A2 aumentada | 5                  | 20,83 |
| AS           | 2                  | 8,3   |
| ASH          | 2                  | 8,3   |
| Total        | 24                 | 100   |

Das 15 amostras onde detectou-se talassemia alfa, 4 apresentaram hemoglobina A2 inferior a 2%. Nestes casos provavelmente houve interação entre alfa talassemia menor e anemia ferropênica. O nível de hemoglobina H aferido obteve uma média de 4%. Para as 5 amostras que apresentaram a presença de talassemia beta foi aferido uma média de 6,5% de hemoglobina A2 aumentada. As demais amostras apresentaram a presença de traço falciforme (AS) e outras duas a presença de associação entre o traço falciforme e a talassemia alfa (ASH).

Na análise dos hemogramas constatou-se que a anemia microcítica e hipocrômica é mais frequente na população estudada, estando presente em 40% dos casos de talassemia alfa; nos pacientes portadores de talassemia beta não detectou-se anemia, mas todos os pacientes apresentaram microcitose e hipocromia; nos casos detectados para o traço falciforme observou-se dosagem de hemoglobina normal e normocitose e normocromia para os dois portadores; para os dois indivíduos que apresentaram associação entre alfa talassemia e traço falciforme observou-se microcitose e hipocromia, com hemoglobina abaixo do valor referencial, conforme pode ser observado na tabela 3.

Na análise citológica realizada em lâmina corada por May Grunwald-Giemsa e no esfregaço italiano constatou-se significativa anisopoiquilocitose com diferentes graus em praticamente todas as amostras alteradas, somente estando dentro dos padrões morfológicos normais nos pacientes portadores do traço falciforme.

Dacriócitos, esquizócitos, codócitos e eliptócitos foram os principais e mais significativos poiquilócitos observados; pontilhados basófilos, corpúsculos de Howell-Jolly e raros eritroblastos foram detectados, porém sem a mesma intensidade dos poiquilócitos.

**Tabela 3.** Relação entre AH detectada e dosagem de HB e Índices Hematimétricos

| Tipo de Hb | HB<br>(11,1-16,5)*<br>(10,6-15,5)** | VCM<br>(78-94)*<br>(74-90)** | HCM<br>(25-32)*<br>(24-32)** |
|------------|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| AH         | 13,6 g/dL                           | 92,9 fL                      | 32,1 pg                      |
| AH         | 12,2 g/dL                           | 90,5 fL                      | 31,4 pg                      |
| AH         | 13,1 g/dL                           | 79,7 fL                      | 26,4 pg                      |
| AH (A2↓)   | 8,9 g/dL                            | 75 fL                        | 24,7 pg                      |
| AH (A2↓)   | 8,1 g/dL                            | 70,5 fL                      | 20,8 pg                      |
| AH         | 12,9 g/dL                           | 70,1 fL                      | 21,9 pg                      |
| AH         | 10,8 g/dL                           | 74 fL                        | 23,6 pg                      |
| AH         | 7,8 g/dL                            | 56,8 fL                      | 16,4 pg                      |
| AH (A2↓)   | 10,8 g/dL                           | 70,5 fL                      | 22,5 pg                      |
| AH         | 11,2 g/dL                           | 77,1 fL                      | 24,7 pg                      |
| AH         | 12,1 g/dL                           | 78,8 fL                      | 25,2 pg                      |
| AH         | 13,4 g/dL                           | 88,2 fL                      | 29,3 pg                      |
| AH         | 8 g/dL                              | 70,9 fL                      | 19,7 pg                      |
| AH         | 13,5 g/dL                           | 87,3 fL                      | 28,6 pg                      |
| AH         | 7,3 g/dL                            | 74,1 fL                      | 24,9 pg                      |
| A2↑        | 11,6 g/dL                           | 62,1 fL                      | 20,7 pg                      |
| A2↑        | 11,2 g/dL                           | 62,2 fL                      | 20,6 pg                      |
| A2↑        | 11,3 g/dL                           | 63,6 fL                      | 20,6 pg                      |
| A2↑        | 13,4 g/dL                           | 66,4 fL                      | 22,2 pg                      |
| A2↑        | 14,3 g/dL                           | 69,6 fL                      | 22,6 pg                      |
| AS         | 11,2 g/dL                           | 74,1 fL                      | 24,3 pg                      |
| AS         | 15,3 g/dL                           | 87,8 fL                      | 30 pg                        |
| ASH        | 11,0 g/dL                           | 72,2 fL                      | 22,7 pg                      |
| ASH        | 9,3 g/dL                            | 72,2 fL                      | 23,2 pg                      |

\*PACIENTES ADULTOS (ACIMA DE 14 ANOS)

\*\*PACIENTES ABAIXO DE 13 ANOS

## Discussão

A alfa talassemia (AH) foi a anemia hereditária com maior prevalência sobre a população testada, estando presente em 15% das amostras analisadas e em 2% em associação com o traço falciforme (ASH). Provavelmente, trata-se da principal anemia microcítica e hipocrômica detectada em pacientes da região de Apucarana nos casos onde os níveis de hemoglobina estão normais mas há VCM e HCM abaixo da referência. Assim como outros trabalhos constatou-se

variabilidade morfológica dos eritrócitos em associação com diminuição dos índices hematimétricos<sup>10</sup>.

A detecção de hemoglobina H em pacientes com hemograma normal, sem alteração nos índices hematimétricos, se deve ao fato de que nestes casos o valor de Hb H detectada foi em torno de 1,5%. Naoum explica que para casos de pacientes com Hb H entre 0,5%-2%, geralmente, o hemograma não apresenta alterações numéricas. Esses casos são agrupados como talassemias mínimas<sup>11</sup>.

Das amostras onde observou-se presença de hemoglobina H acima de 3%, com associação de hemoglobina A2 diminuída é possível a associação entre portadores heterozigotos de alfa talassemia em concomitância para anemia ferropênica. Nestes casos o ideal é realizar tratamento da ferropenia para posteriormente repetir a eletroforese de hemoglobinas<sup>12</sup>.

A presença maciça de alfa talassemia no norte paranaense corrobora com o fato de que esta anemia hereditária ser prevalente em quase todos os continentes, notadamente na Ásia e Oceania, região mediterrânea europeia, Oriente Médio e América<sup>13</sup>. Melo-Reis et al. demonstrou que esta talassemia é a mais prevalente em diferentes regiões do Brasil, normalmente sendo identificada a hemoglobina H por meio de eletroforese alcalina e comprovada por testes de citologia morfológica<sup>14</sup>. Naoum et al. demonstrou que para a região de São José do Rio Preto (SP) as talassemias representaram 17,1% do total de hemoglobinas variantes nos pacientes testados, enquanto que para a região de Presidente Prudente as talassemias prevaleceram em 40% do total. Isso se deveu ao fato de que a região de Presidente Prudente recebeu um maior aporte de etnia italiana e asiática<sup>15</sup>.

A talassemia beta detectada em 5% das amostras analisadas foi determinada pela presença de hemoglobina A2 aumentada; nestes casos os indivíduos não apresentaram diminuição dos valores referenciais para a hemoglobina, porém havendo alteração nos índices hematimétricos, demonstrando microcitose e hipocromia. Apesar de estar menos prevalente em relação a alfa talassemia, esta anemia hereditária possui destaque sobre a população estudada, onde o componente étnico mediterrâneo se faz notável; a colonização italiana é uma

das principais nas regiões sudeste e sul do Brasil, sendo que Apucarana recebeu forte contingente populacional migratório e imigratório formado por esta etnia<sup>16,17</sup>.

Devemos levar em consideração o fato de que pode haver interação entre a beta talassemia e a anemia ferropênica; a deficiência de ferro interfere na formação da cadeia delta da Hb A<sub>2</sub>, diminuindo sua síntese e posteriormente diminuindo seus níveis, podendo gerar resultados espúrios que mascarem a real condição do paciente<sup>11</sup>.

A alta prevalência de talassemia alfa neste estudo coincide com os resultados obtidos por Wagner et al., onde a população negra ou parda no estado do Rio Grande do Sul possui frequência de 26,2% desta talassemia<sup>18</sup>.

Quatro amostras revelaram presença do gene S, sendo que em duas havia o traço falciforme (AS) e duas a associação entre o traço falciforme e alfa talassemia (ASH), obtendo valores de Hb H próximos a 1%. Normalmente, nessas situações não há sinais clínicos e sintomas nos portadores.

O estudo da interação de Hb S com outras hemoglobinas variantes é importante devido haver a possibilidade de interferência benéfica ao paciente. Como exemplo, em quadros clínicos em que há associação entre Hb S e Hb H, devido a microcitose causada pela talassemia, ocorre menos polimerização e falcização das hemácias. Este processo diminui significativamente vaso oclusões no sistema circulatório do paciente, atenuando os sintomas e melhorando a qualidade de vida do portador<sup>6</sup>.

A distribuição de hemoglobina S encontrada neste estudo é diferente de Naoum, em que seu estudo observou distribuição de Hb S no estado do Paraná de 1,87%. Todavia, em seu estudo foram avaliadas 2.033 pessoas, sendo essas de diferentes regiões paranaenses; no presente estudo a análise ocorreu em quantidade inferior e restrita a população da região da cidade de Apucarana. Portanto, mesmo que sejam pacientes heterozigotos detectados, fica demonstrada a necessidade de estudos mais abrangentes que visem maior detalhamento de incidência e prevalência desta hemoglobina sobre a população deste estado<sup>19</sup>.



## **Conclusão**

Os resultados obtidos nesta pesquisa, em população específica que é encaminhada ao laboratório para esclarecer as causas de suas anemias persistentes ou quadros de anemias a serem esclarecidos, mostrou que diminuições nos índices hematimétricos (VCM e HCM) podem estar diretamente relacionados com talassemia alfa ou beta menor. Estes casos devem ser submetidos a análises eletroforéticas de hemoglobinas para correto diagnóstico dos pacientes com posterior esclarecimento de suas condições genéticas e adequado manejo terapêutico.

## Referências Bibliográficas

1. Melo-Reis PR et al. A importância do diagnóstico precoce na prevenção das anemias hereditárias – relato de caso. Laes&Haes, n.66, 2006
2. Naoum PC. Anemia imigrantes: origem das anemias hereditárias. Ciência Hoje, n.14, vol.3
3. Orlando GM et al. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. Rev. bras. hematol. hemot. n. 22, 2000
4. Bertholo LC; Moreira HW. Amplificação gênica alelo-específica na caracterização das hemoglobinas S, C e D e as interações entre elas e talassemia beta. J. brasil. patol. med. lab. v. 42, n. 4, 2006
5. Vargas SP; Yamagushi MU. Diagnóstico laboratorial para talassemias. Rev. Saúde e Pesquisa, v. 1, n. 1, 2008
6. Bonini-Domingos CR et.al. hemoglobinas AS/Alfa talassemia – importância diagnóstica. Rev. bras. hematol. hemot. n. 22, 2000
7. Angulo IL; Picado SBR. Hemoglobina C em homozigose e interação com talassemia beta. Rev. bras. hematol. hemot. 2009
8. Melo LMS et al. Rastreamento de hemoglobinas variantes e talassemias com associação de métodos de diagnóstico. Rev. bras. hematol. hemot. n. 30, 2008
9. Portaria Ministério da Saúde Nº 822/2001. Brasil
10. Mesquita MM. Avaliação da prevalência de talassemia alfa em uma população com anemia microcítica e hipocrômica. Tese de mestrado. Universidade Católica de Goiás, 2006
11. Naoum PC et al. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. Rev. bras. hematol. hemot. n. 29, 2007
12. Leoneli GG et al. Hemoglobinas anormais e dificuldade diagnóstica. Rev. bras. hematol. hemot. n. 22, 2000
13. Cançado RD. Talassemias alfa. Rev. bras. hematol. hemot. n. 28, 2006
14. Melo-Reis PR et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes do estado de Goiás, Brasil. J. brasil. patol. med. lab. v. 42, n. 6, 2006
15. Naoum PC et al. Detecção e conscientização de portadores de hemoglobinopatias nas regiões de São José do Rio Preto e Presidente Prudente, SP (BRASIL). Revista de Saúde Pública. n. 19, 1985
16. Boni PC. Certidões de nascimento da história: o surgimento de municípios no eixo Londrina-Maringá. 2009
17. Faria MCC. Apucarana – processo de ocupação. VII congresso internacional de história. UEM, 2015
18. Wagner SC et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev. bras. hematol. hemot. n. 27, 2005

19. NAOUM, P. C.; DOMINGOS, C. R. B. Técnicas laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais, In: NAOUM, P. C. (Ed.), Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Sarvier. 155-156. 1997