

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS TALASSEMIAS ALFA MÍNIMA E MENOR

Paulo Cesar Naoum

Biomédico, Professor Titular pela UNESP e Diretor da Academia de
Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP

Talassemias são alterações genéticas e hematológicas causadas por deficiências nas produções de globinas alfa ou beta, principalmente, e que podem ser parciais ou totais. Quando os eritroblastos sintetizam hemoglobinas, o processo ocorre por meio de sincronia compartilhada de produção de globinas alfa e beta, juntamente com seus respectivos grupos heme. Sob o ponto de vista genético, os genes alfa e beta envolvidos nas sínteses de globinas alfa e beta, respectivamente, as fazem de formas equilibradas, que, enfim, resultam nas hemoglobinas normais A, A₂ e Fetal (figura 1).

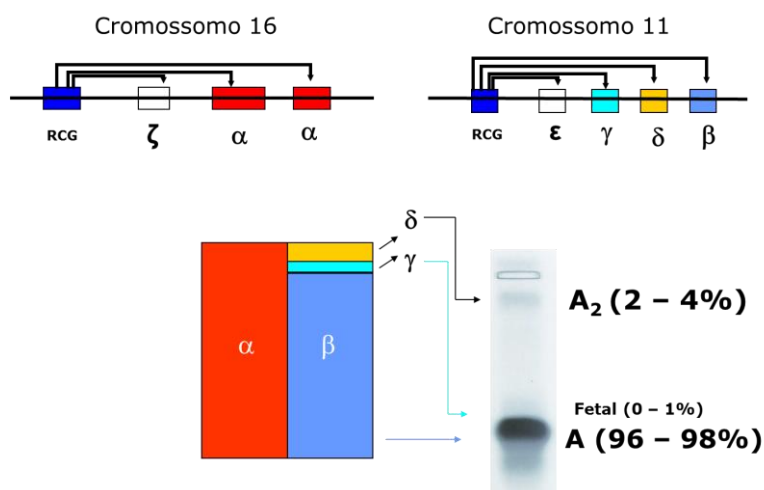


Figura 1 - Síntese equilibrada de globinas alfa e beta resultando em hemoglobinas normais.

Denomina-se por *talassemia alfa* quando os genes alfa falham na produção de globinas alfa, enquanto que os genes beta produzem normalmente a globina beta. Da mesma forma vale esta consideração para a *talassemia beta*, onde, neste caso a falha ocorre na produção da globina beta, enquanto que a globina alfa é sintetizada normalmente (figura 2).



Figura 2 - Sínteses desequilibradas de globinas alfa e beta resultando em talassemias alfa e beta, respectivamente.

Quando a produção de globina alfa é menor que a de beta, obviamente haverá “sobra” de beta. As globinas beta que se tornaram livres por não terem globinas alfa para se combinarem, acabam por se juntar em tetrâmeros beta (β_4) e formam uma hemoglobina anormal, a **Hb H** (figura 3).

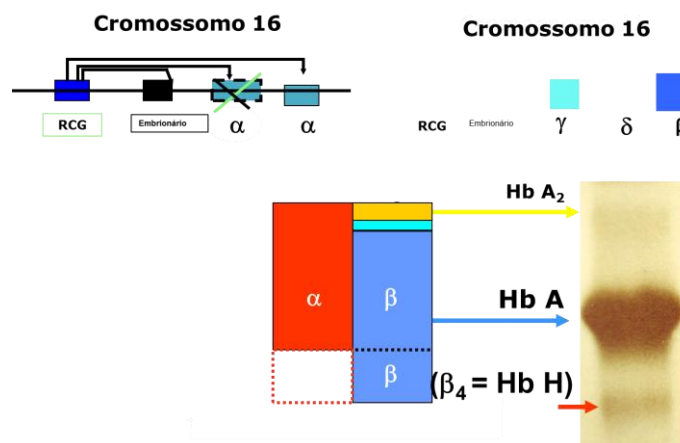


Figura 3 – Síntese da Hb H. A diminuição da produção de globina alfa em relação à globina beta normalmente produzida, gera um “excesso” de globinas beta que se agregam para formar a Hb H.

A hemoglobina H é instável, de tal forma que nas eletroforeses em que o processo termodinâmico atinge 37°C, ou mais, é capaz de desnatura-la, fazendo-a desaparecer após quinze minutos iniciais do procedimento, notadamente quando sua concentração está abaixo de 2%. Esse fato prejudica a sua identificação e a confirmação laboratorial de *talassemia alfa*, uma vez que a maioria das pessoas portadoras de *talassemia alfa* têm Hb H com concentrações entre 0.5 e 2%.

A talassemia alfa é mais comum que a talassemia beta, uma vez que a globina alfa é sintetizada por quatro genes alfa (dois genes em cada um dos dois cromossomos 16), enquanto que a globina beta é regida por dois genes beta (um gene em cada um dos cromossomos 11). Assim, a suscetibilidade para ocorrer mutações nos genes alfa é maior em relação ao beta e, provavelmente, esta é a razão pela qual muito mais pessoas padecem de talassemia alfa em todas as

regiões do mundo em relação à talassemia beta. Como o tema deste artigo é talassemia alfa, será apresentado apenas essa patologia hematológica hereditária. Neste contexto, é preciso relatar que há quatro formas clínicas de *talassemias alfa*: mínima (assintomática), menor (assintomática), intermédia ou doença de Hb H (sintomática), e maior ou hidropsia fetal por Hb Bart's (mortal). De maneira geral há correspondências clínicas e laboratoriais para cada tipo, conforme se relata a seguir.

No Brasil, de forma geral, 20 a 30% da população tem a ***talassemia alfa mínima*** (Hb H com concentrações variáveis entre 0,5 a 5%), enquanto que 3 a 5% da população padecem de ***talassemia alfa menor*** (Hb H com concentrações entre 5 a 10%), uma em cada 5 mil pessoas tem a ***doença de Hb H ou talassemia alfa intermediária*** (Hb H com concentrações entre 10 e 30%) e, por fim, a ***talassemia alfa maior ou hidropsia fetal por Hb Bart's*** (Hb Bart's com concentrações entre 80 a 100%) é extremamente rara. A figura 4 mostra as correlações entre talassemias alfa mínima e menor com as concentrações de Hb H em eletroforese alcalina para hemoglobinas.

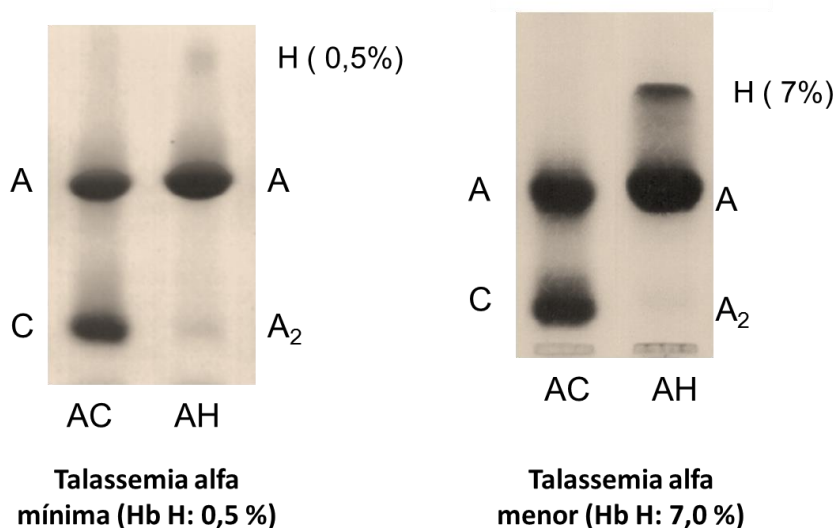


Figura 4 – Diferença entre as concentrações de Hb H em eletroforese alcalina para hemoglobinas, respectivamente para talassemias alfa mínima e menor.

As *talassemias alfa mínima e menor* são clinicamente assintomáticas e somente um médico muito bem informado será capaz de supor que os relatos de cansaço, dores nas pernas e desânimo se devem a uma provável *talassemia alfa*. Ao solicitar exames básicos como o hemograma para um portador de *talassemia alfa mínima*, a hemoglobina total e os índices hematimétricos estão, quase sempre, nos níveis de normalidade. Para o portador de *talassemia alfa menor*, por sua vez, a hemoglobina pode estar normal ou discretamente diminuída, mas o VCM e HCM sempre se apresentam diminuídos. A morfologia eritrocitária, em ambas as formas de *talassemias alfa* (mínima e menor) se mostrará com discretas anisocitose (micrócitos, inclusive) e poiquilocitose (esquisócitos, inclusive). Metodologicamente, a presença da Hb H com concentrações abaixo de 5% se mostra com comportamentos diferentes conforme a técnica usada. Nestas concentrações a Hb H se torna imperceptível em sistemas fechados (agarose,

acetato de celulose ou capilar), pois são as mesmas desnaturadas pelo processo termodinâmico da eletroforese. Também são imperceptíveis em cromatografia por HPLC quando se usa coluna básica para diferenciação de hemoglobinas. Na metodologia de cromatografias a Hb H abaixo de 5% de concentração somente será detectada se for usada a coluna de HPLC específica para identificação de Hb H. Portanto, apenas as eletroforeses em acetato de celulose de sistema aberto ou manual, em que se pode levantar a tampa da cuba eletroforética após 5 ou 10 minutos do início do processo é que permite verificar se a fração de Hb H está ou não presente na amostra analisada. Por outro lado, somente quando a concentração de Hb H está acima de 5% será possível identifica-la mesmo em sistemas fechados de eletroforeses e em cromatografia por HPLC. A Hb H também pode ser identificada por meio da coloração intra-eritrocitária de Hb H, entretanto este método tem baixa resolução técnica, servindo apenas para demonstrações em aulas práticas (figura 5).

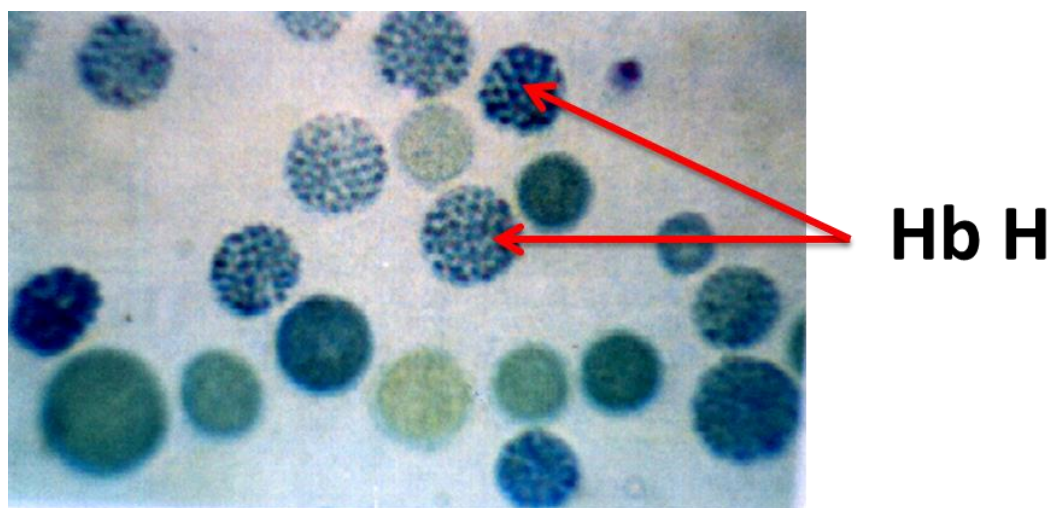


Figura 5 – Precipitação intraeritrocitária de Hb H na *talassemia alfa menor*. Coloração com azul de crezil brilhante a 1% em sangue total incubado a 37°C por 30 minutos.

Há duas importantes dificuldades em relação ao diagnóstico das talassemias alfa mínima (principalmente) e alfa menor. A talassemia alfa mínima não altera o eritrograma e este fato faz com que os médicos que a desconhecem não deem importância à busca de seu diagnóstico. A talassemia alfa menor, por sua vez, apresenta discreto grau de anemia microcítica e hipocrômica e, talvez por isso, é muitas vezes confundida como anemia por deficiência de ferro. Mas o ferro sérico e a saturação de transferrina nesses portadores estão sempre normais, desde que não tenham deficiência de ferro associada à talassemia. Porém, é preciso considerar que há casos de associações entre talassemias alfa com deficiência de ferro, principalmente em gestantes e crianças. Nessas situações, a deficiência na síntese de hemoglobina **induz menor formação de Hb H** dificultando sua identificação em eletroforeses de sistema aberto. A confirmação laboratorial da suspeita de talassemia nessas associações deve ser realizada

após o tratamento da deficiência de ferro e o estabelecimento da normalidade do do ferro sérico do paciente. Pessoas com talassemia alfa intermédia (conhecida por *doença de Hb H*) tem sintomas evidentes de anemia, hemoglobina total diminuída, geralmente entre 8 a 10 g/dL, VCM e HCM diminuídos, e múltiplas alterações eritrocitárias. A cronicidade da anemia e a ausência de resposta ao tratamento com ferro (situação muito comum nesses casos) faz com que o médico suspeite de talassemia. A talassemia alfa maior ou *hidropsia fetal da Hb Bart's*, por sua vez, é uma situação muito grave que provoca aborto ou o óbito do recém-nascido. A análise do sangue do RN ou do cordão umbilical mostrará eritroblastose fetal.

Diante dessa breve apresentação introdutória dos tipos de talassemia alfa, há de se considerar que é possível que alguns médicos e/ou pacientes possam discordar do resultado que indica a presença de Hb H. Na maioria das vezes este fato ocorre devido à *não comprovação* da presença de Hb H em exames realizados em outros laboratórios, quer seja por terem usados sistemas fechados de eletroforese ou técnicas de cromatografia por HPLC sem coluna cromatográfica adequada para esta finalidade. Diante dessas discordâncias há a opção de se realizarem *testes moleculares* para comprovação de talassemia alfa e que podem identificar mutações ou deleções nos genes da globina alfa. Entretanto, a confiabilidade de seus resultados pode ser questionada se os mesmos não forem realizados de forma adequada. Os laboratórios brasileiros que realizam esses testes utilizam, em geral, de sete a doze marcadores moleculares para identificar lesões em genes alfa e que poderiam causar talassemia alfa. Porém, há de se considerar que existem pelo menos 50 marcadores moleculares para talassemia alfa e que deveriam ser todos testados antes de rejeitar os resultados eletrofréticos que evidenciam a presença de Hb H. Como se sabe, a Hb H é o produto final da lesão genética da globina alfa que causa a talassemia alfa. Os laboratórios de biologia molecular alegam, portanto, que esses poucos testes para análise de lesões moleculares são os que mais prevalecem na população brasileira. Ocorre, porém, que a população brasileira é uma das mais miscigenadas do mundo, formada por africanos, europeus e asiáticos de diversas etnias, em que todas apresentam diferentes lesões moleculares que causam a presença de Hb H e, portanto, da talassemia alfa. Enfim, a negatividade em doze mutações testadas para globina alfa, num universo de pelo menos 50 existentes, não pode afastar a possibilidade do diagnóstico feito através da presença do produto final de uma proteína conhecida por Hb H. Para tanto, seria necessário de testar as 50 mutações, de fato.

Para complicar a negatividade desses testes moleculares diante da presença de Hb H, os genes alfa são instáveis, aparecendo e desaparecendo em alguns pacientes. Essa instabilidade se deve às diferentes deleções que atingem o gene da globina alfa, mas que felizmente são muito raros.

Referências:

Naoum PC, Bonini-Domingos CR. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 29:226-228,2007.

Bain BJ. The alpha, beta, delta and gamma thalassaemias and related conditions. Table 3.2, Table 3.3, Table 3.5 and Table 3.6; Figures: 3.12 and 3.14. blackwell Science Publisher, Oxford, 2001.

www.talassemiias.com.br