Prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em pacientes com anemia na cidade de São Carlos

Ana Paula Rodrigues

RESUMO

Com o objetivo de estabelecer a freqüência de hemoglobinas variantes e β-talassemias em pacientes com anemia não ferropênica foram estudados 316 pacientes comprovadamente com anemia não ferropênica e 140 controles obtidos de pessoas sem anemia. Todas as 456 amostras foram obtidas no laboratório de análises clínicas – UNILAB - Unimed, São Carlos, SP, Brasil. As técnicas realizadas foram eletroforese semi automatizada, em acetato de celulose, pH alcalino e pH ácido, hemograma, reticulócitos e ferritina. A análise dos dados realizada no grupo de pacientes com anemia não ferropênica demonstrou que 9,51% eram portadores de alguma forma de anemia hereditária: 1,90% apresentaram aumento da hemoglobina A_2, 1,27% apresentou presença de hemoglobina F (Hb AF), 2,53% de heterozigose para hemoglobina S (Hb AS), 0,32% de homozigose para hemoglobina S (Hb SS), 2,22% de heterozigose para hemoglobinas S e F (Hb SF), e 1,27% de heterozigose para hemoglobina C (Hb AC). No grupo dos controles, foram identificados 1,42% de anemias hereditárias, sendo destas 0,71% apresentou aumento da hemoglobina A_2 e 0,71% apresentou heterozigose para hemoglobina S (Hb AS). A prevalência dessas hemopatias hereditárias em pessoas com anemia não ferropênica deve ser divulgada entre médicos dada a sua importância no diagnóstico definitivo de anemia e dos corretos procedimentos terapêuticos.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; talassemias beta; anemia não ferropênica.

Introdução e Objetivo

As anemias hereditárias estão entre as doenças genéticas mais comuns e compreendem um grupo de condições de variável complexidade. No passado, sua distribuição geográfica abrangia apenas áreas tropicais e subtropicais do mundo, cuja explicação se baseia no efeito protetor que tinham os portadores heterozigotos falcêmicos e talassêmicos contra as infecções endêmicas causadas pelos plasmódios da malária. Devido ao aumento dos movimentos migratórios ocorridos em diversas regiões, com conseqüente miscigenação, essas variantes acabaram-se por difundirem em áreas antes tidas como não endêmicas, como no Continente Americano e no Norte da Europa.

De uma maneira geral, as anemias hereditárias por defeito da hemoglobina podem ser divididas em dois grandes grupos: as hemoglobinopatias, que se caracterizam pela presença de hemoglobinas estruturalmente anormais e as talassemias, caracterizadas pela síntese deficiente de uma ou mais cadeias polipeptídicas (globinas) das hemoglobinas humanas normais. Especialmente com referência às talassemias, elas podem ser classificadas em alfa e beta, envolvendo os genes alfa e beta globina, respectivamente.

A hemoglobinopatia mais comum em nosso meio é anemia falciforme, causada por uma mutação de ponto no gene da β-globina, que leva a produção da hemoglobina anormal, com valina em vez de acido glutâmico na posição 6 da cadeia globínica, denominada hemoglobina S (Hb S). O termo doença falciforme inclui o estado homozigótico para Hb S que é a anemia falciforme e as duplas heterozigoses como as associações de Hb S e Hb C (hemoglobinopatia SC) ou de Hb S e β-talassemia ($S\beta^0$-talassemia e $S\beta^+$-talassemia). A doença falciforme caracteriza-se pela de anemia hemolítica crônica com presença de hemácias em forma de foice (falciformes), policromasia, pontilhado basófilo e eritroblastos circulantes. O traço falciforme, que é a associação de Hb A e Hb S (Hb AS), não é considerado doente falciforme.

Pelo fato de que a talassemia beta e as hemoglobinas variantes Hb S, Hb C e Hb E, serem as mais prevalentes respectivamente nos continentes europeu, africano e asiático, não é raro a ocorrência de interações entre talassemias e essas hemoglobinas variantes: Hb S/ Tal. Beta; Hb C/ Tal. Beta e Hb E/ Tal. Beta. No Brasil não é raro a presença de talassemias interativas por Hb S/ Tal. Beta devido à intensa miscigenação racial que ocorre entre nossa população.

Apesar da variedade de alterações moleculares possíveis, as talassemias beta podem ser classificadas em quatro grandes grupos:

1- β-talassemia maior ou major: pouco freqüente, é a forma mais grave, caracterizando-se por anemia intensa, (Hb de 4 a 6g/dL), dependência de transfusões e complicações relacionadas à sobrecarga de ferro. Caracteriza-se por baixa estatura, palidez, abdome protuso, leve icterícia e anormalidades esqueléticas.

A anemia é hipocrômica e microcítica com células em alvo, pontilhado basófilo e grande quantidade de eritroblastos circulantes. A porcentagem de reticulócitos varia de 5% a 15%. A maior parte da hemoglobina presente é a Hb F, com pouca ou nenhuma Hb A, associada a quantidades variáveis de Hb A_2.

2- β-talassemia intermediaria: caracteriza-se por anemia hemolítica de gravidade variável (Hb de 7 a 10g/dL) sem dependência transfusional. Suas manifestações variam desde condições próximas a β-talassemia maior ate a doença com poucos sintomas. O esfregaço sanguíneo exibe características morfológicas típicas das talassemias. A eletroforese de hemoglobina é variável com aumento da Hb A_2 e quantidades de Hb F que dependem do grau de deficiência de síntese causado pela mutação presente em cada caso.

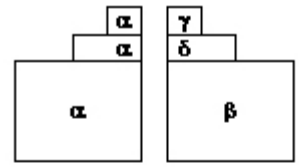
3- β-talassemia menor ou minor: associada a alterações dos eritrócitos com microcitose e hipocromia, muitos esquisósitos, dacriócitos e pontilhados basófilos; com pequena ou nenhuma anemia, porem com valores desproporcionais entre numero de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito (eritrócitos: 5 x 10^{12} - L, Hb: 12g/dL, Ht 36%, VCM: 62 e HCM: 20,6). A eletroforese de hemoglobina mostra níveis aumentados de Hb A_2 em 95% dos casos e em 5% pode apresentar valores normais de Hb A_2 e elevação de Hb F com, concentração entre 2 a 5%, sabendo-se que o valor da Hb F é de zero a 1% após o sexto mês de idade.

4- Portador silencioso: forma designada, também, como talassemia mínima, a qual é indetectável clinica e hematologicamente uma vez que apresenta valores de Hb entre 11 a 16g/dL e discreta alteração na morfologia eritrocitária.

Pelo defeito na síntese de quantidades normais de hemoglobina, os eritrócitos apresentam-se microcíticos e hipocrômicos. Estes dados são de relevância clínica, uma vez que estas alterações hematológicas são seguidamente interpretadas como indicadores de deficiência de ferro ou características de anemia de doenças crônicas.

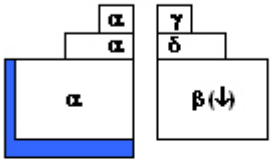
Este estudo teve por objetivo principal estabelecer a freqüência da talassemia beta e outras hemoglobinopatias em duas populações atendidas no Unilab – Unimed São Carlos: portadores de anemia microcítica não ferropênica a esclarecer e indivíduos sem anemia (controles).

Relação entre quantidade de globinas alfa livre, níveis de Hb A, Hb A_2 e Hb fetal, e gravidade do quadro clinico em pacientes com talassemia beta menor e maior:



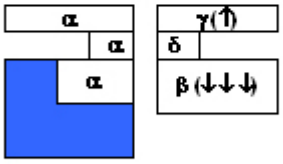
- Hb Fetal → 0-1%
- Hb A_2 → 2,0 – 3,5%
- Hb A → 96-98%

Padrão de equilíbrio normal de globinas



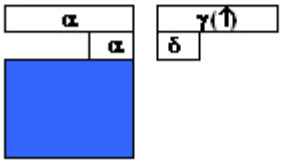
Beta talassemia heterozigota menor

- Hb A_2 ↑
- HCM ↓
- Anemia microcítica – hipocrômica (+)
- Cadeias alfa livre



Beta talassemia homozigota maior (β^+)

- Hb A ↓
- Hb Fetal ↑↑
- Anemia microcítica – hipocrômica (+++)
- Cadeias alfa livre em excesso
- Aumento da bilirrubina indireta
- Esplenomegalia



Beta talassemia homozigota maior (β^0)

- Ausência de Hb A
- Hb Fetal ↑↑
- Anemia microcítica – hipocrômica (++++)
- Cadeias alfa livre em excesso
- Aumento da bilirrubina indireta
- Esplenomegalia

Casuística e Métodos

O presente trabalho foi realizado após aprovação do diretor do laboratório Unilab.

Neste estudo foram analisadas amostras de sangue periférico de 456 pacientes sendo 140 controles e 316 pacientes portadores de anemia, no período de dezembro de 2009 a agosto de 2010. Os critérios de inclusão foram: portadores de anemia microcítica não ferropênica a esclarecer. Para os controles, os critérios de inclusão foram: pacientes não portadores de anemia. Foram excluídos do estudo crianças menores de 1 ano, gestantes e pacientes com neoplasias.

Os índices hematimétricos (HCT, RBC, VCM, HCM, CHCM e RDW) e as concentrações de hemoglobina (Hb) foram obtidos de contador eletrônico de células (XE 2100 - Sysmex®). A contagem de reticulócitos em microscópio foi determinada após a incubação a 37º C durante vinte minutos, de partes iguais de sangue total e azul de cresil brilhante.

A análise qualitativa e quantitativa das frações hemoglobínicas foi realizada em eletroforese semi automatizada, Hidragel - Sebia® em fita de acetato de celulose, pH 8,6, com hemolisado preparado a partir do sangue total colhido em EDTA: 10 µL de hemácias levadas com solução fisiológica + 130 µL de solução hemolizante. Para confirmação da presença de hemoglobina S e hemoglobina C, foi realizada eletroforese em meio ácido.

Os estoques de ferro foram avaliados através da medida de ferritina sérica, em equipamento de quimioluminescência (Immulite-DPC).

Resultados

Foram estudados 316 pacientes comprovadamente com anemia não ferropênica e 140 controles obtidos de pessoas sem anemia totalizando 456 pacientes atendidos no Unilab – Unimed São Carlos, provenientes deste mesmo município e região.

A presença de anemia e microcitose foi avaliada através dos índices hematimétricos de acordo com o sexo e a faixa etária dos pacientes, seguidos de avaliação microscópica da serie vermelha em esfregaços sanguíneos.

Os resultados do perfil Hemoglobínico apresentado pelas análises das amostras estão sumarizados na tabela a seguir:

Perfis Hemoglobínicos Identificados nas Amostras Analisadas			
Perfil Hemoglobínico	**Pacientes estudados**	**Controles**	**Total**
Hb AA	286 (90,49%)	138 (98,58%)	424 (92,98%)
Hb A_2 aumentada	6 (1,90%)	1 (0,71%)	7 (1,53%)
Hb AF	4 (1,27%)	0	4 (0,88%)
Hb AS	8 (2,53%)	1 (0,71%)	9 (1,97%)
Hb SS	1 (0,32%)	0	1 (0,22%)
Hb SF	7 (2,22%)	0	7 (1,54%)
Hb AC	4 (1,27%)	0	4 (0,88%)
Total	**316 (100%)**	**140 (100%)**	**456 (100%)**
Hb AA: Homozigose para hemoglobina A; Hb AF: heterozigose para hemoglobina F; Hb AS: traço falciforme; Hb SF: doente falciforme com presença de Hb F; Hb SS: doente falciforme e Hb AC: Heterozigose para hemoglobina C.			

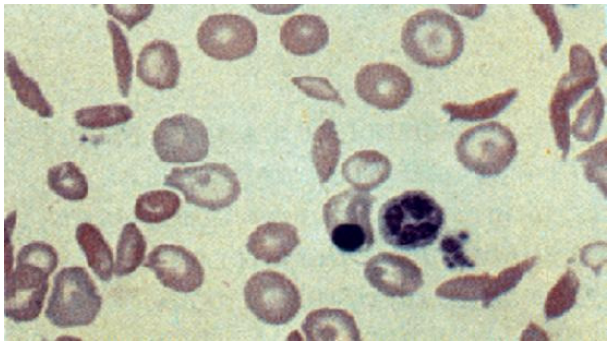


Figura 1. Hemácias falciformes, hemácias em alvo, hipocromia, policromasia e um eritroblasto, observados em esfregaço sanguíneo; paciente com anemia falciforme.

Figura 2 .Hemácias microcíticas, hipocrômicas e presença de dacriócitos observados em esfregaço sanguíneo; paciente com talassemia.

Dentre os 316 pacientes analisados, a talassemia beta, diagnosticada através do aumento de Hb A_2, e/ ou presença de Hb F, análise dos índices hematimétricos e esfregaço sanguíneo, foi identificada em 10 amostras, sendo 6 amostras com Hb A_2 aumentada e 4 com presença de Hb F (Hb AF). A hemoglobina S foi identificada em 16 amostras sendo que 8 apresentaram heterozigose Hb AS, 1 homozigose Hb SS e 7 apresentaram heterozigose para Hb F (Hb SF). Também foram identificadas 4 amostras em heterozigose para Hb C (Hb AC).

Entre os controles, 2 amostras apresentaram alterações, sendo que 1 amostra apresentou presença de Hb S em heterozigose (Hb AS) e 1 amostra apresentou Hb A_2 discretamente aumentada, o qual o hemograma apresentou apenas o VCM discretamente diminuído.

Assim, dos 456 pacientes analisados, 32 (7,02%) apresentaram alguma forma de hemoglobinopatia ou de talassemia.

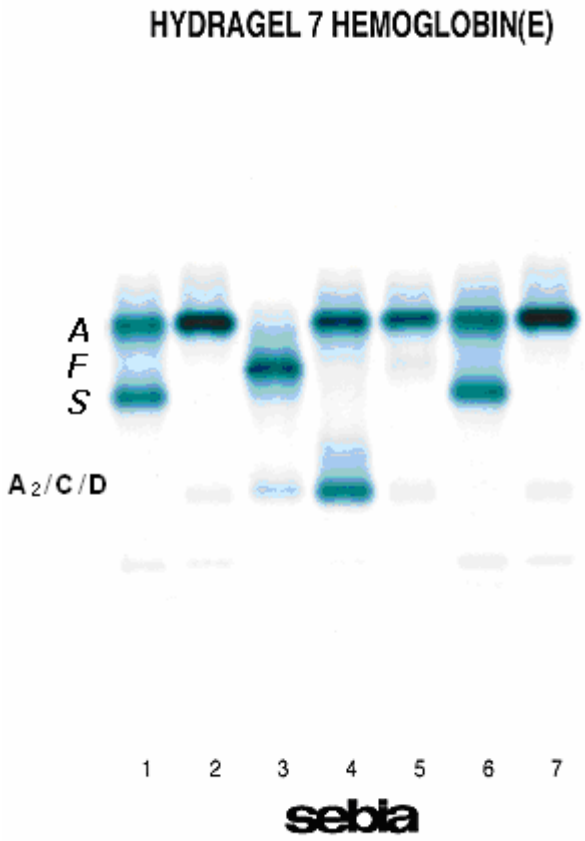


Figura 3. Gel agarose usado para determinação da eletroforese de hemoglobina pH alcalino: **1 - Hb AS, 2 - Hb AA, 3 - Hb FA_2, 4 - Hb AC 5 - Hb AA, 6 - Hb AS, 7 - HbAA**

Discussão e Conclusão

A população brasileira se caracteriza por apresentar uma grande heterogeneidade genética e um nível de miscigenação significativo e progressivo. A distribuição das talassemias e hemoglobinopatias se relaciona com os diversos grupos raciais que participaram na formação da população brasileira. O IBGE estabelece cinco opções para cor ou raça na nossa população: branca, preta, amarela, parda e índia. Os dados do censo realizado em 2000 apresentam a classificação da população brasileira de acordo com esta variável. Indivíduos de cor preta ou parda representam 45% da população brasileira.

No grupo estudado, a maior proporção de pacientes sem alterações pode ser devido à possível seleção da população que procura assistência médica no Unilab, onde predomina o atendimento por convenio médico, de indivíduos economicamente mais favorecidos, onde o número de afro-descendentes é menor. Isto pode sugerir um pequeno processo de mistura racial na população estudada, na qual a presença de genes africanos e europeus é menor.

Os resultados apresentados nesse trabalho demonstram que as talassemias e as hemoglobinopatias são pouco freqüentes em populações de indivíduos com anemia microcítica não ferropênica. Com relação à talassemia alfa, a sua freqüência não é definida, uma vez que a tecnologia utilizada não é capaz de detectar os portadores.

A freqüência de talassemias e hemoglobinopatias identificada entre os pacientes pode ser devido ao laboratório Unilab constituir-se em de referência na cidade para diagnóstico de distúrbios hematológicos. Além disso, a deficiência de ferro e as anemias de doenças crônicas, causas de microcitose, foram excluídas através de exames laboratoriais e consultas médicas.

Com as técnicas utilizadas na realização deste trabalho, grande número de pacientes com anemia microcítica não ferropênica a esclarecer pode ser diagnosticado como portador de algum tipo de anemia hereditária, destacando as talassemias beta, doença e traço falciforme.

Os resultados obtidos permitem concluir que a prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no grupo controle coincide com a descrita na literatura.

A principal vantagem da identificação correta destes indivíduos é evitar a administração desnecessária de ferro, além de exames laboratoriais e consultas médicas. Destaca-se, porém, a presença de 2 pacientes sem anemia, com índices hematimétricos normais, classificados como portadores silenciosos.

Embora as técnicas aplicadas neste estudo tenham sido capazes de diagnosticar 9,51% dos pacientes com anemia não ferropênica, o restante dos pacientes apenas será diagnosticado através do uso de técnicas especificas e de biologia molecular, ainda não disponíveis para uso na rotina da maioria dos laboratórios clínicos.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom a mim concedido, aos meus pais, Jose Jorge e Maria Jose, pelo grande apoio, a UNIMED, em especial ao Dr Adriano Marchetti Del Valle e Maria Cristina Sorrigotti pela oportunidade de crescimento, e demais funcionários do Laboratório pelo auxílio nas determinações realizadas.

Referências Bibliográficas

01. Beta talassemias - http://www.hemoglobinopatias.com.br

02. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico. http://www.ibge.gov.br

03. Lorenzi Therezinha F. Atlas de Hematologia.Clinica Hematológica Ilustrada.ed Medsi.2006. p. 310,331

04. Lorenzi Therezinha F. Manual de Hematologia.Propedêutica e Clínica.ed Medsi, 3ª ed.,Rio de Janeiro, 2003; p.253,272

05. MELO-REIS, P.R. et aL, A importância do diagnostico precoce na prevenção das anemias hereditárias. Rev Bras Hematol Hemoter, v. 28, n. 2, p. 149-52, 2006

06. Naoum PC, Isiqui WD, Pagotto RC et al. Prevalência de hemoglobinopatias em amostras de proveniência diferenciada. Bol Soc Bras Hematol Hemoter 1989; 153:69-72.

07. Naoum PC, Bonini-Domingos CR. Técnicas laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais. In: Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Savier Editora. Livros Médicos; 1997. p. 144-70.

08. Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Savier Editora. Livros Médicos; 1997. p. 144-70.

09. Naoum, PC Eletroforese. Técnicas e diagnósticos. 2. Ed. São Paulo: Santos Editora, 1999.

10.Naoum, PC. CD-Rom “Doenças dos Eritrócitos” Academia de Ciência e Tecnologia de São Jose do Rio Preto, 2005.

11. Sebia. CD-Rom Istructions e safety data sheets. 2009/07.

12. Orlando GM, Naoum PC, Siqueira FAM et al. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. Rev Bras Hematol Hemot v. 22, n. 2, p. 111 -21, 2000.

13. Viana-Baracioli LMS, Bonini-Domingos CR, Pagliusi RA et al. Prevenção de hemoglobinopatias, a partir do estudo em gestantes. Rev Bras Hematol Hemoter 2001;23:31-39.