

Artigo de Revisão

HEMOGLOBINOPATIAS NO BRASIL – Importância do Diagnóstico Laboratorial

Rodrigo Marreiros Neri¹

Resumo

As hemoglobinopatias são distúrbios hematológicos hereditários decorrentes de alterações na estrutura ou produção das globinas humanas que geram hemoglobinas (Hb) variantes. Dentre essas doenças, as mais frequentes são a Anemia Falciforme por homozigose do gene para HbSS, heterozigose para a HbSC e as Talassemias. A OMS estima que mais de 6% da população seja portadora de alguma hemoglobinopatia e que programas de saúde pública devem ser implantados para detectar, tratar e reduzir o impacto fisiopatogênico dessas doenças em seus portadores. No Brasil, devido à miscigenação racial, são frequentes as hemoglobinas variantes HbS e HbC e a talassemia beta. Esta revisão foi realizada com o objetivo de atualizar informações sobre a situação epidemiológica e importância do diagnóstico para estas condições genéticas no Brasil e demonstrar que a investigação laboratorial precoce é a melhor estratégia para a prevenção, controle e diminuição dos prejuízos em saúde e sociais aos indivíduos que carregam estas patologias.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias, hemoglobinas variantes, Anemia Falciforme, Talassemias.

Introdução

As hemoglobinopatias são doenças de base genética autossômica recessiva, em que as cadeias de globinas presentes na hemoglobina humana apresentam defeitos estruturais ou produção insuficiente. Essas condições estão difundidas por todo o mundo e são frequentes em populações com origens raciais diversificadas. Entre estas anemias hereditárias, destacam-se a Anemia Falciforme e as Talassemias. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

Devido à intensa miscigenação, as hemoglobinopatias são comuns entre os brasileiros, principalmente falcemias e talassemias, o que torna a investigação clínica e laboratorial imprescindível para minimizar os prejuízos à saúde dos portadores da doença bem como preveni-las através do aconselhamento genético de casais heterozigotos que são portadores silenciosos de um dos genes causadores dessas condições, controlando a morbidade e mortalidade das doenças. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

Dados sugerem que mais de 6% da população mundial seja portadora de algum dos mais de 500 tipos de hemoglobinopatias hereditárias e segundo a OMS três delas requerem programas de vigilância por sua considerável morbimortalidade: HbS, HbC e Talassemia beta. No Brasil, estudos revelam que mais de 10 milhões de indivíduos são heterozigotos para tais

¹ – Aluno do Curso de Pós-Graduação “*Lato Sensu*” em Hematologia Clínica, Laboratorial e Banco de Sangue da Academia de Ciência e Tecnologia, de São José do Rio Preto/SP, turma de 2014-2015. rodrigoneri_@hotmail.com

genes e por serem assintomáticos, facilitam a propagação dessas doenças. (SOBRINHO *et al*, 2011; KRAWCZYK *et al*, 2014)

Objetivo - Definir a importância do diagnóstico laboratorial das Hemoglobinopatias para os portadores dessas doenças, tanto para minimizar os danos à saúde dos doentes quanto para determinar medidas de prevenção à propagação destas condições por portadores silenciosos que nem mesmo sabem de sua situação genética e também verificar as Hemoglobinopatias mais frequentes na população brasileira.

Método - Para execução deste trabalho foi realizada uma revisão de literatura com busca de artigos e dissertações com as palavras chaves como Hemoglobinopatias, hemoglobinas variantes, anemias hereditárias, anemia falciforme e talassemias, em bases de dados como Scielo e PubMed. Foram selecionados os trabalhos mais recentes que registravam informações importantes para atualizar os conhecimentos sobre as doenças, manifestações clínicas, a distribuição no Brasil e importância do diagnóstico.

ASPECTOS GERAIS DAS HEMOGLOBINOPATIAS

A hemoglobina é formada por 4 cadeias de globinas, cada uma associada a um grupo heme (anel tetrapirrólico com um átomo de ferro). Todas as hemácias humanas carregam hemoglobinas através das quais podem transportar oxigênio (O₂) para todos os tecidos do corpo humano e qualquer problema que comprometa essa distribuição saudável de O₂ tem consequências devastadoras ao organismo. As hemoglobinas normais nos seres humanos são a HbA, formada por 2 cadeias de globina α (alfa) e 2 cadeias de globina β (beta); HbA₂, que apresenta 2 cadeias α ligadas a 2 cadeias δ (delta); e a HbF (fetal), com 2 cadeias α junto a duas cadeias γ (gama). No adulto, a HbA predomina de 96,5% a 98% e as outras respectivamente 2,5 a 3,5% e 0 a 1%. O recém-nascido apresenta altos índices de Hb fetal, que vão se normalizando até atingirem as taxas dos adultos ao 6º mês de vida. Algumas hemoglobinas variantes frequentes são a HbS e HbC, ambas de origem africana. Já as talassemias são frequentes em populações de origem italiana. A hemoglobina D é uma variante mais rara. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

As hemoglobinas variantes são resultado de alterações ocorridas nos genes que sequenciam cada tipo de proteína globina ou gene regulador de sua produção: se uma base nitrogenada da sequência gênica é alterada pode ocorrer mudança no padrão bioquímico daquela proteína gerando moléculas com variações polimórficas e funcionais. (VALER *et al*, 2012)

DOENÇAS POR Hb VARIANTES: HbSS, HbSC e HbCC

As doenças falciformes são as doenças hereditárias mais frequentes no Brasil, seja caracterizada por perfil homocigoto HbSS, heterocigoto HbSC ou HbSD ou outras variantes mais raras. Apesar das particularidades genéticas o perfil epidemiológico e manifestações clínicas e hematológicas são semelhantes. A associação entre HbA e HbS não é considerada doença, mas traço falciforme. A falcemia e os traços falcêmicos são condições frequentes em populações de origem africana. (RODRIGUES, 2011)

Segundo a OMS, 25% dos portadores de Anemia Falciforme morrem antes dos 5 anos de idade e 70% antes dos 25 anos. Dessa forma, o diagnóstico precoce é a melhor estratégia para detectar os portadores e inseri-los em programas de assistência especializada para a gravidade da doença. (LOPES *et al*, 2011)

Uma mutação pontual no gene da betaglobina na posição 6 da cadeia globínica leva a uma troca do ácido glutâmico por uma valina, codificando a HbS, ou por lisina na produção de HbC. A doença HbSS caracteriza-se por uma anemia hemolítica crônica, com hemácias em forma de foíce, policromasia, pontilhados basófilos e eritroblastos circulantes. A imperfeição eritrocitária ocorre porque, em baixos níveis de O₂, a HbS tende a polimerizar-se, deformando as hemácias e ocasionando a hemólise. A anemia por HbCC apresenta hemólise crônica, acompanhada de hepatoesplenomegalia e presença de hemácias em alvo na circulação. (RODRIGUES, 2011; PAULA *et al* 2013)

Em indivíduos heterozigotos HbAS, a condição pode ser silenciosa ou envolver sintomas amenos, e o portador pode sofrer crises apenas em situações de hipóxia como grandes altitudes, afogamentos etc. Já nos portadores homozigotos, as manifestações clínico-hematológicas começam no início da vida, levando a limitações físicas, problemas sociais e familiares, grandes gastos econômicos em serviços de saúde e altas taxas de mortalidade. (PAULA *et al* 2013)

O dano causado pelos polímeros de HbS à membrana celular rompe as hemácias causando crises hemolíticas e os eritrócitos falcizados causam oclusão de vasos sanguíneos de pequeno calibre danificando a função tecidual em certos órgãos. O baço que é o principal alvo de infartos e o comprometimento esplênico gera imunossupressão, deixando os pacientes vulneráveis a infecções por *Haemophilus influenzae* e pneumococos, que podem levar à morte tanto quanto o choque hipovolêmico causado pela queda dos níveis de hemácias circulantes. Nos adultos a principal causa de morte é a vaso-occlusão dos pulmões. As crises de dor intensa pelos episódios de falcização seguidos por oclusão de vasos são em geral as primeiras manifestações clínicas, acompanhadas por icterícia e predisposição à formação de úlceras nas pernas, colelitíase e acidente vascular encefálico. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

TALASSEMIAS

As talassemias constituem um grupo de anemias de origem autossômica recessiva, cujas mutações afetam a síntese de cadeias de globina e caracterizam uma diminuição ou ausência de cadeias alfa ou beta, sendo classificadas de acordo com o tipo de cadeia ausente como talassemia alfa ou talassemia beta. Essas doenças são mais frequentes em populações oriundas de povos do Mediterrâneo, como italianos e espanhóis. Podem ser causadas por deleções ou mutações que impedem a expressão gênica correta e conseqüente diminuição de tetrâmeros funcionais das HbA, HbA₂ e HbF, o que define o processo fisiopatológico e manifestações clínicas das síndromes talassêmicas. (ALEXANDRE e MARINI, 2013; TEIXEIRA, 2014)

De acordo com a quantidade de genes de globina α afetados definem-se quatro síndromes alfa talassêmicas: alfa talassemia silenciosa ($\alpha\alpha/\alpha^-$) e alfa talassemia menor ($\alpha\alpha/--$ ou α^-/α^-), que não apresentam maiores complicações por ainda expressarem genes que produzem hemoglobinas normais; doença da hemoglobina H ($\alpha^-/--$), de quadro clínico mais severo, e a hidropsia fetal, em que a ausência de globinas α é incompatível com a vida. A HbH é um tetrâmero das globinas β excedentes e tem função semelhante à HbA, porém é mais instável e de menor duração no organismo, exigindo que o paciente faça acompanhamento médico periódico, transfusões sanguíneas e exames anuais. (TEIXEIRA, 2014)

A talassemia β é mais comum no Brasil e não é raro que esteja interagindo com HbS ou outra variante, devido à intensa miscigenação racial em nossa população. Apesar das diversas alterações moleculares possíveis e mais de 300 mutações já identificadas, as talassemias β são classificadas em quatro grandes grupos: o portador silencioso, que é clínica e hematologicamente indetectável; a beta talassemia menor, que é assintomática ou traz hemácias ligeiramente microcíticas hipocrômicas, comumente apresentando aumento da

HbA₂; e as beta talassemias major e intermediária, que são os quadros mais graves das anemia. (RODRIGUES, 2011; TEIXEIRA, 2014)

Na talassemia β major, ou homozigota, os eritrócitos são deformados e a HbF apresenta níveis aumentados. Há uma anemia hemolítica grave e a sobrevivência dos pacientes até idade adulta depende de transfusões constantes. As globinas α em excesso se precipitam nos precursores das hemácias, levando à destruição destas células e ocasionando aumento da eritropoetina, expansão da medula óssea, esplenomegalia, deformidades ósseas, distúrbios cardíacos e endócrinos, retardo no crescimento e maturação sexual, infecções recorrentes entre vários outros sintomas observados a partir do sexto mês de vida, período em que a síntese normal de cadeias beta se estabilizaria. Nos pacientes beta talassêmicos homozigotos a HbF varia de 20% a 90% e a HbA₂ pode estar normal ou elevada. Na talassemia β intermediária podem ocorrer quadros clínicos mais amenos devido à herança de mutações diferentes, redução associada de alfa e beta globinas ou presença de Hb variantes. Estes pacientes apresentam reticulocitose e também podem ser dependentes de transfusões de sangue. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS HEMOGLOBINOPATIAS

O diagnóstico dessas doenças é complexo e deve envolver também análises de dados clínicos, herança genética e fatores como idade do indivíduo, condições de estocagem e armazenamento da amostra. A confirmação laboratorial das hemoglobinopatias é importante para melhorar a abordagem terapêutica, evitar a morbi-mortalidade de portadores homozigotos e orientar portadores heterozigotos. (ALEXANDRE e MARINI, 2013; KRAWCZYK *et al*, 2014)

São avaliados, no laboratório, índices hematimétricos como hematócrito, contagem de células vermelhas, parâmetros de tamanho, cor e variação da morfologia das hemácias (VCM, HCM, CHCM e RDW) e concentração de hemoglobina. A contagem de reticulócitos é realizada para avaliar a função da medula óssea e a gravidade da anemia. A dosagem de ferro sérico é um aspecto bioquímico importante para diferenciar essas patologias, evitando que a presença de microcitose e hipocromia seja interpretada incorretamente como anemia ferropênica. (RODRIGUES, 2011)

A identificação fenotípica das hemoglobinas variantes pode ser feita traçando o perfil eletroforético: eletroforese alcalina em fita de acetato de celulose ou agarose para pesquisa de HbS e HbC e eletroforese ácida, ou agarose ácida, para diferenciar a HbS de outras variantes que migram com a mesma carga elétrica da HbS na técnica anterior. Atualmente, os métodos de mais alta precisão para análises qualitativas e quantitativas das frações hemoglobínicas são a focalização isoelétrica em gel de poliacrilamida (IEF), bem como técnicas de cromatografia líquida de alta pressão (CLAE). Os testes realizados para avaliar a função da hemoglobina são o teste de solubilidade em NaCl 0,36% para talassemia; teste de falcização eritrocitária para pesquisa de HbS; precipitação de hemoglobinas instáveis em isopropanol e pesquisa direta de corpos de inclusão em hemácias. (MIRANDA, 2014)

O diagnóstico molecular baseia-se na reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite pesquisa direta das mutações mais frequentes na população e identificação de casos nas famílias afetadas. A genética molecular auxilia na detecção de alterações nos genes das globinas que dão origem a proteínas anormais e a técnica de PCR-AE (alelo-específica) pode distinguir alelos gênicos que diferem em um nucleotídeo específico, o que a torna muito útil na triagem populacional e confirmação do diagnóstico de hemoglobinopatias, evitando interpretações errôneas ou tratamentos clínicos equivocados e melhorando as estratégias de prevenção. (KRAWCZYK *et al*, 2014)

TRIAGEM NEONATAL

O Programa de Triagem Neonatal (PTN) foi criado em junho de 2001 e normatizado pela portaria GM/MS nº 822/2001, no âmbito do SUS, com objetivo de diagnosticar, acompanhar e tratar os nascidos vivos com doenças congênitas por meio da implantação de três fases: I- Fenilcetonúria e Hipotireoidismo, II – Anemia Falciforme e Hemoglobinopatias e III- fibrose cística. Com a triagem, as crianças passaram a receber o tratamento adequado já nos primeiros meses de vida, melhorando significativamente sua qualidade de vida e prevenindo sintomas e complicações mais graves. (SILES, 2011)

No início, o PTN utilizava dois procedimentos eletroforéticos associados para pesquisa de hemoglobinas, a eletroforese alcalina para diferenciar a HbA da HbF, HbS e HbC e a eletroforese ácida, que distinguem HbA2 de HbC, HbO e HbE, bem como HbS de HbD ou HbG. Atualmente, utiliza métodos de IEF ou CLAE e resultados positivos são repetidos. Índices hematimétricos são utilizados na investigação das talassemias junto à resistência osmótica, eletroforese e quantificação de HbA2/HbF, dosagem de ferro sérico, análise a fresco da morfologia eritrocitária e presença de precipitados. As amostras analisadas são sangue do cordão umbilical ou sangue seco em papel filtro coletado do calcanhar dos recém-nascidos, mas fatores como prematuridade, troca de amostras ou transfusões sanguíneas anteriores podem interferir. Após 6 meses, os pacientes positivos são reencaminhados ao serviço para realização de novos exames e investigação clínica. Dados do PTN revelam que no Brasil nascem 3.500 crianças por ano com Anemia Falciforme e 200.000 com traço falciforme. (ALEXANDRE e MARINI, 2013)

Considerações Finais

As hemoglobinopatias são doenças crônicas e incuráveis, porém tratáveis. Suas consequências trazem grande sofrimento aos seus portadores homocigotos, e mesmo os heterocigotos necessitam de atenção e cuidados específicos. O diagnóstico precoce é a melhor estratégia de combate aos danos clínicos e sociais causados por essas doenças e auxilia na prevenção das mesmas através de orientação aos portadores heterocigotos. Os programas de Triagem Neonatal identificam os indivíduos afetados precocemente e permitem reduzir as taxas de mortalidade e aumentar a sobrevivência dos pacientes falcêmicos e talassêmicos.

O Brasil é um país caracterizado por grande heterogeneidade genética e miscigenação progressiva e, como descrito no trabalho, os genes que causam anemia falciforme e talassemias já se estabeleceram na população. A forma mais eficaz de controle e prevenção destas patologias é detecção e identificação de portadores de hemoglobinopatias ou de um de seus genes, através da confirmação laboratorial em rede bem estabelecida com colaboração de laboratórios públicos ou privados e investigação acurada das hemoglobinas circulantes entre os afetados para uma melhor vigilância e definição do perfil epidemiológico molecular.

Investimentos em boas políticas públicas de saúde, oferta de diagnóstico clínico e pré-natal mais acessível, conscientização das pessoas e maior investigação científica na área permitirão, no futuro, mudar o curso clínico das doenças, melhorar o cuidado com os afetados e quem sabe atenuar o impacto dessas condições na sociedade moderna.

Referências

ALEXANDRE, J.M.; MARINI, D.C. Conhecendo e Tratando as Hemoglobinopatias: Anemia Falciforme e Beta-talassemia. *Rev. FOCO*, num. 5. Julho/Dezembro, 2013.

KRAWCZYK, *et al.* Prevalência de hemoglobina S por PCR-AE em pacientes do laboratório clínico da PUC de Goiás. *Estudos*, Goiânia. vol. 41. n.4 p. 689-696, out./dez. 2014.

LOPES, T. C. *et al.* A avaliação do Programa Nacional de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo, 2011.

MIRANDA, A. Hemoglobinas em Portugal e estratégias de prevenção: contributo do laboratório de hematologia e bioquímica. In: 18ª Reunião Anual da SPGH - Portugal, 2014.

PAULA, R.A.O. *et al.* Intervenções para a prevenção de condições crônicas: avaliação da prevalência de Hemoglobinas variantes em população estudantil – Alfenas, MG. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, v. 10, n. 1, p. 106-113, jan/jul. 2013.

RODRIGUES, A.P. Prevalência de Hemoglobinopatias e talassemias em pacientes com anemia na cidade de São Carlos. *AC&T CIENTÍFICA*, on-line, vol.1, n. 2, 2010.

SILES, C. G. Incidência de casos de anemia falciforme por meio de triagem neonatal na região da Baixada Santista, estado de São Paulo, no ano de 2010. 17f. Dissertação de Mestrado – Especialização em Genética, modalidade de ensino à distância, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SOBRINHO, E. F. A. *et al.*, Manifestações retinianas em pacientes portadores de anemia de células falciformes. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, p. 284-9, 2011.

TEIXEIRA, P. M. S. Hemoglobinas: clínica, diagnóstico e terapêutica. 83 f. Dissertação de mestrado – Área científica de hematologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, 2014.

VALER, T. S. P. *et al.* Hemoglobinas: prevalência em doadores de sangue. *Revista Saúde e Pesquisa*. v. 5, n. 1, p. 27-34, jan./abr. 2012.