



ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE

LUÍS FLÁVIO CASTRO HOGEM

**ASPECTOS LABORATORIAS DAS TALASSEMIAS BETA**

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO/SP

2017

## RESUMO

Talassemias são hemoglobinopatias quantitativas, hereditárias, genéticas, decorrentes de mutações, na maioria dos casos, nos genes das globinas alfa ou beta, que promovem a redução ou a ausência de síntese de uma ou mais cadeias de globinas formadoras da hemoglobina. A talassemia beta abrange três apresentações clínicas: talassemia beta menor (anemia leve, acomete os heterozigotos), talassemia beta intermediária (de anemia leve a grave, podendo necessitar de transfusões de hemácias, herança em hétero ou homozigose) e talassemia beta maior (anemia grave que necessita de transfusões de hemácias periodicamente, acomete os homozigotos). O presente trabalho tem como objetivo revisar os aspectos laboratoriais da Talassemia beta, a fim de colaborar para um melhor e mais eficaz diagnóstico das diferentes formas dessa doença, dando ênfase nos métodos mais utilizados, sendo eles qualitativos ou quantitativos. Os métodos mais utilizados para avaliar os diferentes tipos de hemoglobinas são a eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e a cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Essas análises permitem o fracionamento dos principais genótipos de hemoglobinas variantes e talassemias. As avaliações podem ser qualitativas ou quantitativas, podendo em algumas situações supor que determinada fração de hemoglobina esteja elevada. A HPLC é bastante útil na identificação das variantes das hemoglobinas e permite a análise de um número grande de amostras em curto espaço de tempo.

## INTRODUÇÃO

A hemoglobina (Hb) é uma proteína de estrutura globular e quaternária com peso molecular de 64000 daltons, tendo como principal função o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos. Cada molécula de Hb consiste em um tetrâmero, composto por duas cadeias de globinas alfa ( $\alpha$ ) e duas de globina não alfa: beta ( $\beta$ ), delta ( $\delta$ ) e gama ( $\gamma$ ). Em cada uma delas encontra-se associada a um grupo heme, formado por um anel de porfirina com átomos de ferro em seu interior.

As combinações entre as cadeias do tipo alfa com as não alfa, originam diferentes moléculas de Hb, conforme o pareamento estabelecido no decorrer das distintas fases de desenvolvimento humano, desde o embrionário até a fase pós natal. Assim a combinação entre as globinas  $\alpha$  com as globinas  $\beta$ ,  $\delta$  e  $\gamma$  formam, respectivamente as hemoglobinas A, A<sub>2</sub> e Fetal (HbF).

Talassemias são hemoglobinopatias quantitativas, hereditárias, genéticas, decorrentes de mutações, na maioria dos casos, nos genes das globinas alfa ou beta, que promovem a redução ou a ausência de síntese de uma ou mais cadeias de globinas formadoras da hemoglobina. O resultado dessas alterações moleculares ocasiona desequilíbrio na produção das cadeias de globina, tendo como maior consequência a eritropoiese ineficaz. Apresentam enorme variedade de manifestações clínicas e laboratoriais, de acordo com a cadeia afetada e com o grau de desequilíbrio na produção quantitativa. Elas são classificadas de acordo com a cadeia polipeptídica afetada, sendo as mais frequentes as talassemias do tipo alfa e as do tipo beta.

O primeiro relato científico da talassemia do tipo beta homozigota foi realizado por um pediatra americano, o Dr. Thomas B. Cooley, que juntamente com sua colega Pearl Lee descreveu, em 1925, os achados hematológicos e clínicos efetuados em quatro crianças que apresentavam anemia grave com o aumento do baço e deformidades dos ossos da face e do crânio. Destacaram um fato importante: as crianças tinham origem ancestral da região do mar Mediterrâneo, por serem de descendências italiana e grega. A partir desse relato, essa síndrome foi denominada por anemia de Cooley & Lee. Alguns anos depois, devido à alta prevalência de relatos similares, principalmente na Itália e na

Grécia, esses casos de anemias graves passaram a ser conhecidos como Anemia do Mediterrâneo. Mais tarde, durante o Congresso Internacional de Hematologia de 1940, um grupo de cientistas optou pelo termo “talassemia major”, onde, em grego, “thalassa” significa mar, e “aima”, doença do sangue.

A talassemia beta abrange três apresentações clínicas: talassemia beta menor (anemia leve, acomete os heterozigotos), talassemia beta intermediária (de anemia leve a grave, podendo necessitar de transfusões de hemácias, herança em hétero ou homozigose) e talassemia beta maior (anemia grave que necessita de transfusões de hemácias periodicamente, acomete os homozigotos).

## **OBJETIVO**

Revisar os aspectos laboratoriais da Talassemia beta, a fim de colaborar para um melhor e mais eficaz diagnóstico das diferentes formas dessa doença, dando ênfase nos métodos mais utilizados, sendo eles qualitativos ou quantitativos.

## TALASSEMIA BETA MENOR

É caracterizada geneticamente pela herança de um único gene mutante. Nas formas beta zero e beta mais, a redução da taxa de síntese de globina beta é menor, mas é o suficiente para causar discreto grau de anemia microcítica e hipocrômica, com aumento de resistência osmótica das hemácias.

Muitas vezes, a talassemia beta menor é mal diagnosticada e as pessoas são tratadas inadequadamente, como se apresentassem anemia por deficiência de ferro. Embora níveis de HbA<sub>2</sub> acima de 3,5% sejam considerados como valor de corte para o diagnóstico, uma HbA<sub>2</sub> de 4% é considerada um limiar mais seguro para este diagnóstico.

Laboratorialmente, as formas de talassemia beta menor caracterizam-se: pelo aumento de HbA<sub>2</sub>; por alterações morfológicas das hemácias identificadas, especialmente por microcitose e hipocromia, podendo ou não estar associadas a dacriócitos e pontilhados basófilos; pelo volume corpuscular médio (VCM) de moderado a acentualmente baixo; pela hemoglobina corpuscular média (HCM) diminuída; pela concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de normal a discretamente diminuída; por *red cell distribution width* (RDW) normal ou discretamente elevado; por reticulócitos em torno de 2% a 5% e por Hb total acima de 10 g/dL em crianças, em torno de 10,1 g/dL a 12,0 g/dL para mulheres e 10,5 g/dL a 14,5 g/dL para homens. A HbF pode estar normal ou discretamente aumentada.

## TALASSEMIA BETA MAIOR

É o resultado do estado homozigoto tanto do tipo beta mais ( $\beta^+$ ) quanto do tipo beta zero ( $\beta^0$ ) ou, em casos mais raros, de um componente heterozigoto de  $\beta^0/\beta^+$  que refletem a redução ou ausência de síntese das cadeias beta.

As mutações denominadas de talassemia  $\beta^0$  resultam na ausência total de produção destas cadeias. Pessoas homozigotas ou duplo heterozigotas para os genes mutantes desta talassemia não formam cadeias beta e, assim, são incapazes de produzir a HbA. Por outro lado, as mutações da  $\beta^+$  talassemia resultam na síntese reduzida, porém detectável dessas cadeias, sendo capazes de produzir alguma HbA e são, geralmente, menos gravemente afetados. Esta é uma das formas de compreender e de antever a variação de gravidade da doença.

A ausência ou deficiência acentuada na produção de cadeias beta causa anemia grave, intensa microcitose e hipocromia, cursando com algum grau de hemólise, icterícia, hepatoesplenomegalia progressiva e alterações ósseas generalizadas. Manifesta-se nos primeiros anos de vida e, geralmente, já passam a depender de transfusões sanguíneas.

O padrão de hemoglobinas nas pessoas com talassemia beta maior é variável, caracterizando-se pelo aumento da HbF, com concentrações que variam de 60% a 90%. As taxas de HbA<sub>2</sub> podem estar normais ou elevadas e a HbA aparece somente nos casos de deficiência parcial da síntese de cadeias beta. Geralmente a Hb total encontra-se entre 3,0 e 7,0 g/dL.

As alterações da morfologia das hemácias vistas no esfregaço sanguíneo são muito intensas e expressam-se por microcitose, hipocromia, codócitos, esquizócitos, dacriócitos, pontilhados basófilos, em associação com numerosos eritroblastos. A policromasia discreta, os esferócitos e o corpúsculo de Howell Jolly também estão presentes. Já o VCM, HCM e CHCM estão diminuídos e o RDW está elevado. Os reticulócitos estão em torno de 5% a 15% e a contagem de plaquetas é usualmente normal.

### **TALASSEMIA BETA INTERMEDIÁRIA**

As formas clínicas são resultantes de diferentes interações genéticas, sendo que as pessoas com essa herança podem apresentar um quadro clínico mais ameno que o da talassemia beta maior.

A Hb em torno de 7 g/dL é o nível geralmente utilizado como ponto de corte entre a talassemia beta intermediária e a maior. No esfregaço sanguíneo, mostra alterações morfológicas eritrocitárias similares às da talassemia beta menor, porém de leve a moderada. Os reticulócitos estão em torno de 3% a 10% e os eritroblastos circulantes, quando presentes, estão em quantidade discreta. A quantidade de HbF é considerável (entre 10% e 50%) e a HbA<sub>2</sub> está acima de 4%. A concentração de HbA é variável. A talassemia beta intermediária pode decorrer da interação das talassemias alfa e beta, com redução concomitante de ambas as cadeias globínicas, o que diminui o número de cadeias desemparelhadas e propicia uma redução na taxa de destruição das hemácias.

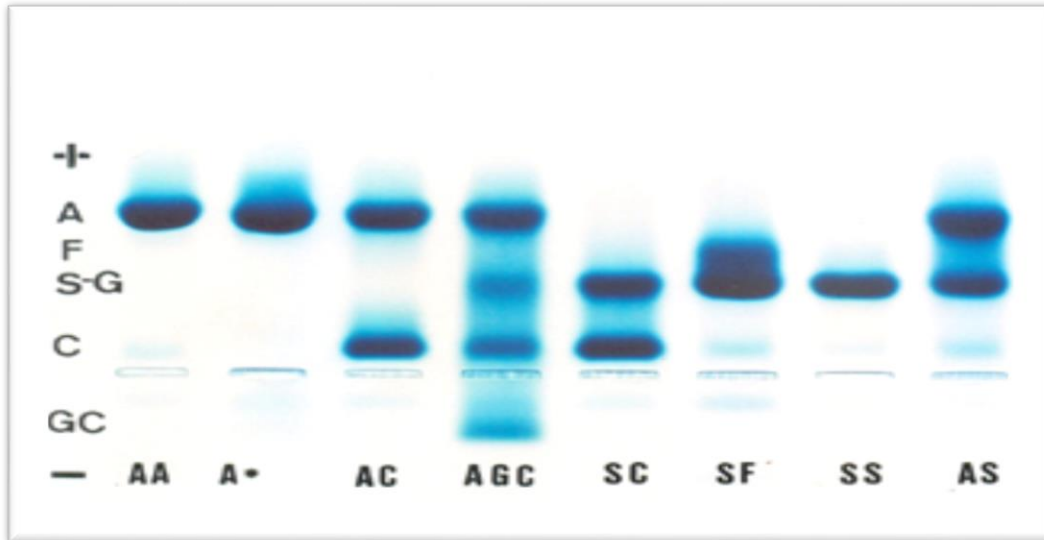
## **AVALIAÇÃO LABORATORIAL**

Os métodos mais utilizados para avaliar os diferentes tipos de hemoglobinas são a eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e a cromatografia líquida de alta pressão (HPLC). Essas análises permitem o fracionamento dos principais genótipos de hemoglobinas variantes e talassemias. As avaliações podem ser qualitativas (figura 1) ou quantitativas, podendo em algumas situações supor que determinada fração de hemoglobina esteja elevada. A HPLC é bastante útil na identificação das variantes das hemoglobinas e permite a análise de um número grande de amostras em curto espaço de tempo. Outras análises complementares auxiliam a quantificar as hemoglobinas A<sub>2</sub> e Fetal, que são a eletroforese alcalina quantitativa e a eletroforese em agarose ácida (figura 2).

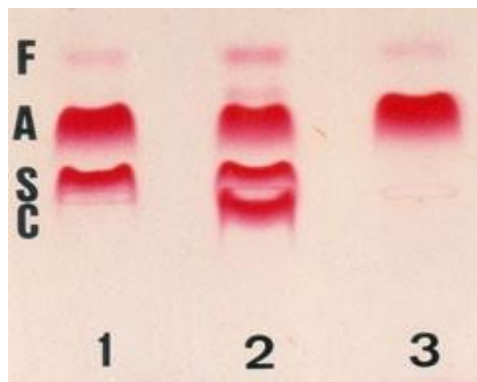
A identificação das mutações e outras alterações genéticas responsáveis pelos diferentes tipos de talassemia por meio das técnicas de biologia molecular representa o método diagnóstico mais sensível para este fim. Entretanto, apesar de muito preciso, a biologia molecular ainda não é utilizada de forma rotineira devido a limitações relacionadas a custo e aplicabilidade, uma vez que há mais de 120 mutações relacionadas a talassemia alfa e mais de 200 relacionadas a talassemia beta.

Na realidade, a confirmação diagnóstica dos diferentes tipos de talassemias e hemoglobinopatias é possível na grande maioria dos casos aliando-se técnicas como a citologia, eletroforese de hemoglobinas e HPLC.





**Figura 1-** Fracionamento de vários genótipos de hemoglobinas em eletroforese de agarose alcalina pH 9,0. Tomando-se a HbAA (caso 1) como padrão, é possível observar a HbA<sub>2</sub> diminuída (caso 2), a dupla heterozigose de HbAGC (caso 4) e as frações variantes AC (caso 3), SC (caso 5), SF (caso 6), SS (caso 7) e AS (caso 8).



**Figura 2-** Eletroforese em agarose ácida: (1) Hb AS; (2) Hb FASC; (3) Hb AA

## **CONCLUSÃO**

Através deste trabalho foi possível rever os melhores e mais eficazes exames para diagnosticar a Talassemia beta e auxiliar na diferenciação dos tipos dessa doença. Podemos concluir também que os métodos mais utilizados como a eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e a cromatografia líquida de alta pressão, aliados a citologia são suficientes para diagnosticar a grande maioria dos casos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

NAOUM, F.A. *Doenças que alteram os exames hematológicos*. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2017.

NAOUM, P.C. *Eletroforeses: hemoglobinopatias, proteínas séricas, lipoproteínas, DNA*. São Paulo: Santos, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Orientações para diagnóstico e tratamento das Talassemias Beta*. 1. ed. atual. 2016.

NAOUM, P.C. *Investigação laboratorial de hemoglobinopatias*. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, vol. 12. 1979.