

AC&T Academia de Ciência e Tecnologia  
Pós-Graduação *latu sensu*  
Especialização em Hematologia e Banco de Sangue

GUILHERME HENRIQUE BRABO NAKASSIMA

**TALASSEMIAS**

**MARÍLIA – SP**

**2012**

AC&T Academia de Ciência e Tecnologia  
Pós-Graduação *latu sensu*  
Especialização em Hematologia e Banco de Sangue

GUILHERME HENRIQUE BRABO NAKASSIMA

## **TALASSEMIAS**

Monografia apresentada à Banca Examinadora da AC&T como requisito para obtenção do título de Especialista em Hematologia e Banco de Sangue com sob orientação de Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum.

**MARÍLIA – SP**

**2012**

## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | <b>1</b>  |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....  | <b>2</b>  |
| <b>3 METODOLOGIA</b> .....  | <b>3</b>  |
| <b>4 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO</b> .....   | <b>4</b>  |
| <b>4.1 Talassemias</b> .....  | <b>4</b>  |
| 4.1.1 Alfa – Talassemia ( $\alpha$ – Talassemia) .....  | <b>5</b>  |
| 4.1.2 Beta – Talassemia ( $\beta$ – Talassemia) .....   | <b>9</b>  |
| 4.1.3 A Interação Alfa Talassemia / Beta Talassemia, HbS / Beta talassemia e outras<br>raras anomalias genéticas nas cadeias de globina ..... | <b>14</b> |
| 4.1.4 Beta / Delta Talassemia .....   | <b>17</b> |
| <b>4.2 Epidemiologia das Talassemias</b> .....  | <b>17</b> |
| <b>4.3 Fisiopatologia e sintomas das talassemias</b> .....  | <b>19</b> |
| <b>4.4 Tratamento</b> .....   | <b>22</b> |
| <b>4.5 Diagnósticos das talassemias</b> .....   | <b>23</b> |
| <b>5 DISCUSSÃO</b> .....  | <b>26</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO</b> .....  | <b>28</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....   | <b>29</b> |

## 1- INTRODUÇÃO

As talassemias compreendem um grupo de defeitos hereditários da hemoglobina, resultante de mutações genéticas que limitam a síntese de uma das cadeias polipeptídicas da globina, em consequência de produção deficiente de ácido ribonucléico. Dependendo da cadeia cuja produção esteja comprometida, são classificadas em talassemia beta, talassemia alfa e talassemia beta-delta.

A Talassemia beta apresenta-se sob três formas clínicas: a) Talassemia menor (ou “traço Talassêmico Beta”), clinicamente assintomático, correspondente ao estado heterozigótico; b) Talassemia maior (em inglês “major” ou anemia de Cooley), forma homozigótica, com grave anemia hemolítica, além de microcitose, hipocromia e outras alterações. É incompatível com a vida na ausência de tratamento transfusional; c) Talassemia intermediária, que pode ter herança genética tanto homozigótica como heterozigótica, mantendo níveis basais de hemoglobina em 7-9 g/dL. É um termo utilizado para caracterizar indivíduos que apresentam quadro clínico intermediário entre as formas leves (talassemia menor) e graves (talassemia maior).

A alfa talassemia em sua forma homozigota é incompatível com a vida, não se forma HbA, HbA<sub>2</sub> ou HbF, surgindo então a Hemoglobina de Bart’s (hemoglobina que não consegue transportar oxigênio para os tecidos). Na forma heterozigota da doença, com deleção ou mutação de dois loci alfa, há ligeiro aumento de HbF e da HbA<sub>2</sub>, conhecida como doença da hemoglobina H, com anemia variando de leve a grave. Na forma com deleção ou mutação de um loci alfa, o paciente apresenta-se sem anemia, sendo este chamado de portador silencioso. Já quando duas cadeias estão reduzidas, o hemograma apresenta apenas uma anemia microcítica, sem nenhum outro sintoma, sendo considerado um traço talassêmico.

Por fim, temos a talassemia beta-delta, sendo esta uma forma rara de talassemia. São anomalias genéticas da talassemia beta homozigótica causadas pelo bloqueio da síntese de cadeias beta e delta, respectivamente HbA e da HbA<sub>2</sub>. As cadeias alfa em excesso combinam com as cadeias gama, formando quantidades variáveis de HbF. Manifesta-se clinicamente por anemia hemolítica moderada, compatível com a vida e muito mais atenuada que a da talassemia beta homozigótica.

## 2 OBJETIVOS

O trabalho proposto teve como objetivo a realização de um levantamento bibliográfico em relação aos conceitos de Alfa Talassemia ( $\alpha$  - Talassemia), Beta Talassemia ( $\beta$  - Talassemia) e as interações entre si, além de alterações raras desta doença, como a Delta Talassemia ( $\delta$  – Talassemia), visando assim contribuir para possíveis estudos futuros.

### **3 METODOLOGIA**

Como metodologia de pesquisa, foi realizada um estudo do tema por meio de acervo bibliográfico e em diversos sites de busca de artigos científicos, resultando assim num conjunto de informações coerentes com o assunto proposto visando fomentar as discussões sobre as talassemias.

## 4- LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

### 4.1 Talassemias

As talassemias formam um grupo heterogêneo de distúrbios genéticos nos quais a produção de hemoglobina de uma ou mais cadeias na globina é total ou parcialmente suprimida. Os diversos tipos de talassemias tem em comum um quadro de redução na síntese da cadeia alfa ( $\alpha$ ) ou beta ( $\beta$ ) da hemoglobina, divididas basicamente em major (mais grave), intermédia (intermediária) e menor (assintomática) (ZAGO, FALCÃO, PASQUINI, 2001).

Etimologicamente, a palavra anemia é constituída por “an” de não e “haíma” de sangue, ou seja, sem sangue., já talassemia significa falta de sangue. Trata-se de uma enfermidade mais comumente encontrada em populações europeias do Mediterrâneo e entre negros americanos (3% do total) e africanos. Atualmente, tem-se tido maior conhecimento de acometimentos na Ásia, principalmente Índia, China e Malásia. (WAGNER et al., 2005)

A doença está presente na população brasileira devido à elevada imigração de indivíduos africanos, asiáticos e europeus principalmente italianos, sendo que o tipo mais comum de talassemia em nossa população é a mesma encontrada na região do mediterrâneo, a beta talassemia. Devido à contínua migração de populações de uma área para outra, não há agora virtualmente nenhum país no mundo em que a talassemia não afete certa porcentagem de seus habitantes. (MELO-REIS et al., 2006)

Existe um controle genético que regula a produção dessas hemoglobinas, tanto para sequenciar os aminoácidos da cadeia de hemoglobina, quanto para regular a quantidade produzida de cada cadeia. Quando ocorre falha no mecanismo de controle de quantidade, surgem alterações na quantidade de hemoglobina, caracterizando a talassemia. Dentro de cada tipo, alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ), existem três classificações: talassemia menor (assintomática), talassemia intermédia (intermediária) e talassemia major (mais grave). Uma pessoa com talassemia menor não apresenta nenhum problema de saúde, exceto uma possível leve anemia que não corrige com o uso de ferro (forma assintomática). A forma intermediária apresenta alterações que precisam ser acompanhadas regularmente por médico. A talassemia major é uma doença séria que exige constantes transfusões de sangue e cuidados médicos intensivos. (ZAGO, FALCÃO, PASQUINI, 2001)

As principais formas da talassemia chamam-se Alfa e Beta Talassemia, de acordo com a porção da hemoglobina, não sintetizada e ausente nos glóbulos dos pacientes. A alfa talassemia possui uma forma extremamente grave que ocasiona a morte do feto ou do recém nascido. A beta talassemia pode variar desde uma forma muito grave até uma forma com pouco ou nenhum efeito sobre a saúde. (WAGNER et al., 2005)

#### **4.1.1 Alfa – Talassemia ( $\alpha$ – Talassemia)**

A talassemia alfa é uma anemia hereditária no qual o resultado é proveniente da síntese deficiente de cadeias alfas, provocando um excesso relativo de cadeias beta que vão formar tetrâmeros identificados como hemoglobina H (conhecido também na sua forma abreviada como Hb H) no indivíduo adulto. (OLIVEIRA et al., 2006)

A Hb H foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos em 1955, sendo considerada uma hemoglobina com características instáveis formando corpúsculos de inclusões nos eritrócitos e visualizados quando submetida à incubação em corantes vitais. Esses achados estavam associados às alterações morfológicas dos eritrócitos, desde que afastadas as possibilidades da anemia microcítica e hipocrômica ser causada devido à deficiência de ferro (NASCIMENTO, BORJA, 1999). Esta anemia é resultante de mutações nos genes alfa, situados no braço curto do cromossomo 16 (na região 16p.13.3). Alterações nestes genes ocasionam uma síntese deficiente de cadeias globínicas alfa, provocando um excesso relativo das outras cadeias, em especial da cadeia beta, modificando assim a composição da molécula de hemoglobina e alterando a fisiologia e morfologia do eritrócito. Esse excesso de cadeias despareadas pode se ligar para formar tetrâmeros de caráter instáveis, acarretando um excesso de Hb H no indivíduo adulto (na forma heterozigota). Na forma homozigota da doença, há um aumento de Hb de Bart's, sendo estas hemoglobinas encontradas no período fetal. É incompatível com a vida. (OLIVEIRA et al., 2006)

As alfa talassemias são diferenciadas e classificadas de acordo com o número de genes alfa lesados, sendo que o grau de lesão pode ser variável, afetando o gene parcial ou totalmente. De uma forma geral, representa-se uma pessoa sem alfa - talassemia quando seus quatro genes alfa são funcionantes, sendo dois genes alfa de um cromossomo 16 e dois do outro cromossomo 16, provenientes um do pai e outro da mãe. A lesão que acomete o gene alfa é denominada por deleção. Essas deleções



podem atingir parte do gene alfa, diminuindo a sua síntese de globina alfa ou atingir integralmente o gene alfa, bloqueando totalmente a síntese de globina alfa. (CASTILHO et al., 1987)

As hemoglobinas produzidas decorrentes destas alterações (Hb H e Hb de Bart's) têm uma afinidade pelo oxigênio dez vezes maior que a Hb A, prejudicam a interação heme-heme e liberam quantidades insuficientes de oxigênio para os tecidos. São responsáveis pelas alterações fisiológicas e morfológicas dos eritrócitos, ocasionando microcitose e hipocromia em diferentes graus. (OLIVEIRA et al., 2006)

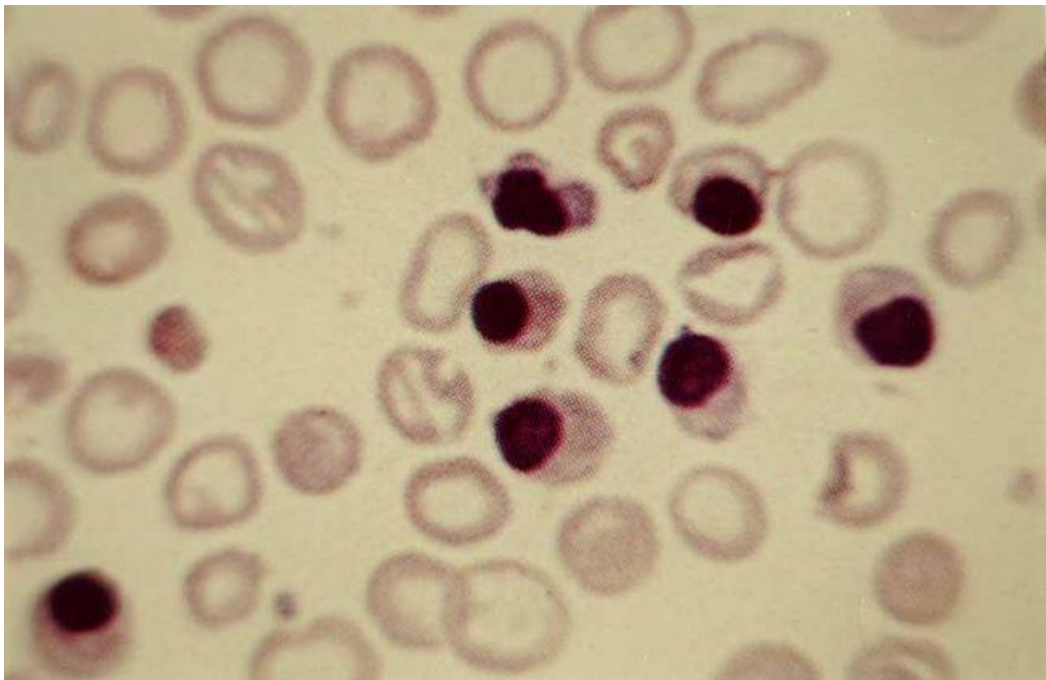
As alfa - talassemias são classificadas em:

a) Talassemia alfa mínima: é a mais comum entre as alfa talassemias e ocorre devido à deleção de apenas um gene alfa. O portador desse tipo de talassemia é assintomático (conhecido como portador “silencioso”), e embora o volume corpuscular médio (VCM) se apresente como discretamente microcítico (VCM < 80), a morfologia eritrocitária é geralmente normal com microcitose em algumas células. O diagnóstico laboratorial do portador silencioso de alfa talassemia requer uma série de informações. Entre elas, podemos observar uma discreta microcitose, com valores de Hb (g/dL) próximo do limite inferior da normalidade, não-responsiva ao tratamento com ferro, história familiar, e identificação da Hb H em pelo menos um dos testes: eletroforese ou pesquisa citológica. A prevalência média do portador silencioso para talassemia alfa é próximo de 17% na população brasileira. (CASTILHO et al., 1987)

b) Talassemia alfa menor (ou traço alfa talassêmico): ocorre devido à deleção de dois genes alfa. Seus portadores, apesar de serem normais sob o ponto de vista clínico, possuem na maioria das vezes sintomas clínicos como fraqueza, cansaço, dores nas pernas e palidez. Apresentam microcitose com alterações da morfologia eritrocitária e discreto grau de anemia. A história clínica do paciente e o estudo familiar são fundamentais para se chegar ao diagnóstico do traço alfa talassêmico. Sua prevalência na nossa população é próxima dos 3%. (CASTILHO et al., 1987)

c) Doença da Hb H (ou talassemia alfa intermédia): A doença de Hb H é rara no Brasil, apesar de vários relatos científicos provenientes de diferentes regiões do país. É causada pela deleção de três genes alfa, e se expressa com uma forma moderadamente grave de talassemia, caracterizada por anemia microcítica e hipocrômica, hemoglobina total variável entre 8 e 11g/dL, aumento do baço e do fígado, e em alguns casos são encontradas deformidades similares às que ocorrem na beta talassemia intermédia. (CASTILHO et al., 1987)

d) Doença da Hb de Bart's (ou hidropsia fetal): é a forma mais grave de todos os tipos de talassemias (tanto alfa como beta), pois é uma forma letal. É esporádica no Brasil, sendo a maioria dos casos descritos na região Asiática. As crianças recém-nascidas afetadas pela deleção dos quatro genes alfa apresentam anemia muito grave, com hemoglobina inferior a 7g/dL, eritroblastose fetal, edema, grande aumento do baço e do fígado, e na maioria dos casos morte com poucas horas após o nascimento. (CASTILHO et al., 1987). A figura 1 mostra a eritroblastose fetal encontrada na hidropsia fetal:



**Fonte:** Disponível em URL:

<http://www.ciencianews.com.br/doencaeritro/Altera%E7%F5es%20Eritr.%20Nas%20Talassemias%20-%207/avalaba.htm>

**Figura 1** - Sangue periférico de criança recém-nascida com hidropsia fetal com a presença de eritroblastose fetal entre 30 e 40% do total da série vermelha

Os portadores de talassemia alfa apresentam anemia com graus variáveis, hipocromia, microcitose, poiquilocitose, diminuição da fragilidade osmótica, reticulocitose, presença de Hb H em eletroforese e na pesquisa citológica de corpos de inclusão de Hb H com coloração vital. As características fenotípicas e hematológicas dos portadores de talassemia alfa são variáveis e não há um padrão claramente

definido na população brasileira, o que torna essencial uma avaliação desse perfil hematológico na população. (OLIVEIRA et al., 2006)

Para compreender melhor o que foi descrito, a tabela 1 mostra a diferenciação dos principais genótipos de hemoglobinas relacionados à talassemia alfa, com os valores de hemoglobina (Hb g/dl), volume corpuscular médio (VCM), reticulócitos e Hb Fetal:

**Tabela 1** - Diferenciação dos principais genótipos de Hb relacionados aos valores de hemoglobina (Hb g/dl), volume corpuscular médio (VCM), reticulócitos e Hb Fetal

| <b>Tipo de talassemia</b>             | <b>Deleção do gene</b>                                     | <b>Alterações hematológicas</b>   | <b>Alterações Clínicas</b>                     | <b>Alterações laboratoriais</b>                                   |
|---------------------------------------|--|---|--|---|
| Portador silencioso                   | $(-, \alpha / \alpha, \alpha)$                             | Discreta microcitose ou normocitose<br>VCM: 75-80<br>HCM: 24-27                                     | Nenhuma Talassemia alfa mínima                 | Traços de Hb H na eletroforese<br>P.I.E. de Hb H: 1/1.000 a 2.000 |
| Traço talassêmico                     | $(-, -/\alpha, \alpha)$<br>ou<br>$(-, \alpha / -, \alpha)$ | Microcitose hipocromia anemia<br>(Hb: 11-13g/dL)<br>VCM: 65-75<br>HCM: 20-24                        | Geralmente assintomático Talassemia alfa menor | Hb H: ~2%<br>P.I.E. de Hb H: 1/250 a 500                          |
| Doença de Hb H                        | $(-, -/ -, \alpha)$  | Microcitose hipocromia anemia<br>(Hb: 8-11g/dL)<br>VCM: 55-65<br>HCM: 20-24                         | Talassemia alfa intermédia                     | Hb H: 10-20%<br>P.I.E. de Hb H: em todos os campos do microscópio |
| Hidropsia fetal                       | $(-, -/ -, -)$   | Anisocitose poiquilocitose eritroblastose anemia<br>(Hb: <7g/dL)<br>VCM: 100-110*<br>HCM: diminuído | Morte neonatal<br><br>Talassemia alfa maior    | Hb Bart's: 80-100%<br>Hb H: 10-20%                                |
| P.I.E.: Pesquisa intra-eritrocitária. |  | *: Elevação do VCM devido a reticulocitose  |  |   |

**Fonte:** (CASTILHO et al., 1987)

#### 4.1.2 Beta – Talassemia ( $\beta$ – Talassemia)

A talassemia beta é uma doença autossômica recessiva, monogênica e hereditária, porém não é congênita. É caracterizada por uma alteração quantitativa na síntese de globinas  $\beta$  da hemoglobina A, e é um dos distúrbios genéticos mais difundidos do mundo e mais comumente encontrados no ser humano (VIVIANI, 2008). No Brasil, a ocorrência dessa síndrome tem sido estudada ao longo do tempo, principalmente devido a composição étnica do nosso país, miscigenada por elementos de origens européia, africana, asiática e indígena, e desigualmente distribuída, a incidência da talassemia pode variar de região para região. (BEZERRA, 2007)

As beta talassemias são mais heterogêneas do que as do tipo alfa. São caracterizadas por uma alteração quantitativa da síntese de globinas beta e são classificadas como talassemias beta zero, quando não há síntese de globinas, e talassemias beta mais, quando há alguma taxa de síntese. As globinas alfa, que são sintetizadas normalmente, acumulam-se nos eritrócitos, durante a eritropoese, causando agregação e precipitação. Os precipitados, formados em quantidades variáveis, danificam a membrana e destroem prematuramente essas células provocando a anemia. (WENNING, SONATI, 2007)

Ainda, de acordo com Wenning e Sonati (2007), as supressões parciais e totais das globinas beta, bem como das globinas delta e gama situadas no mesmo cromossomo 11, dão origem aos diferentes genótipos de talassemias. O modo de herança das talassemias, assim como de outras alterações genéticas da hemoglobina, é autossômico, e o termo dominante ou recessivo é difícil de ser aplicado, porque alguns heterozigotos apresentam claros distúrbios clínicos, ao passo que outros não. No entanto, a beta talassemia é considerada de herança autossômica recessiva, porque são necessários dois genes anormais da globina beta para produzir o fenótipo clinicamente detectável. No entanto, formas dominantes de beta talassemia têm sido identificadas recentemente, as quais resultam em fenótipos de talassemia intermédia para portadores de um único gene alterado.

Mais de cem pontos de mutação que causam beta talassemia já foram bem caracterizados, resultando num déficit de cadeias beta que varia de mínima (alelo beta mais) à ausência completa (alelo beta zero) (NASCIMENTO, BORJA, 1999). Heterozigotos, incluindo os portadores de alelos beta mais e beta zero, são clinicamente assintomáticos. Já os homozigotos ou portadores de componentes

heterozigotos associados apresentam sintomas evidentes, acompanhados de quadros hematológicos muito alterados e são dependentes de transfusão. Variações de ordens clínica e hematológica são observadas, conforme a origem racial do portador. (SONATI, COSTA, 2008)

Grande parte das beta talassemias são determinadas por mutações e deleções que afetam um pequeno número de pares de bases e interferem na transcrição, processamento, transporte, estabilidade e tradução do RNAm (RNA mensageiro), ocorrendo também casos de variantes de cadeias polipeptídicas. Entre essas mutações e deleções podemos citar as *mutações que afetam a transcrição* (concentram-se na substituição de nucleotídeos na região promotora 5' do gene beta), *mutações que alteram o RNAm* (afetam a estabilidade do RNAm, e estas alterações podem estar tanto no capuz da extremidade 5', como na região de clivagem do RNAm), *mutações que afetam a tradução* (mutações sem sentido, que formam códons de terminalização na região codificadora interrompendo a tradução, e por mutações de sentido errôneo, originando códons para aminoácidos alternativos) e por fim as *deleções*. Recentes estudos tem observado em grande número deleções afetando o gene beta da globina, algumas envolvendo os genes delta e beta simultaneamente. A deleção mais comum remove 619 pares de bases do íntron 2, do éxon 3 e da seqüência 3, do gene beta. Outras possuem particular interesse, porque deixam o gene beta intacto com expressão silenciosa, mas são formas muito raras de serem identificadas. (SONATI, COSTA, 2008)

Com a utilização de técnicas de biologia molecular foi possível a identificação de centenas de tipos diferentes de beta talassemias, cujas diversidades estão relacionadas com os graus de lesões no gene beta. Estas lesões podem inclusive atingir os genes delta, pseudogene beta-1, os genes gama alanina e gama glicina e até o gene embrionário épsilon. (WENNING, SONATI, 2007)

O processo fisiopatológico da beta talassemia está muito relacionado com o desequilíbrio que se verifica entre as sínteses de globina alfa e beta. A globina alfa, que não teve sua síntese alterada, apresenta produção normal, e como não há globina beta suficiente para formar tetrâmeros ocorrerá a presença de globinas alfa livres, cuja intensidade é proporcional à piora do quadro clínico do portador. O excesso de globinas (ou cadeias) alfa livres se instabilizam e se precipitam sob forma de corpos de inclusão nos eritroblastos. Essa precipitação provoca situações patológicas celulares, conforme o local de sua ocorrência. (WENNING, SONATI, 2007)

A precipitação de globinas alfa causa o bloqueio da síntese de DNA com conseqüente interrupção da síntese de globinas. O somatório das situações anteriormente mencionadas: precipitação de globina alfa, rigidez celular e lesão do DNA, provocam a eritropoiese ineficaz que é responsável pela situação de anemia e pelo aumento da absorção do ferro. (VIVIANI, 2008)

Quando os eritrócitos com os corpos de inclusões compostos por globinas alfa atingem o sangue periférico, a rigidez destes, associada às lesões na membrana eritrocitária, contribui para o sequestro dessas células durante a circulação no baço. O resultado dessa alteração fisiopatológica nos doentes talassêmicos é a anemia hemolítica, com aumento da concentração da bilirrubina indireta e da esplenomegalia. Esta evolui a um processo mais abrangente de destruição das células do sangue, gerado a leucopenia e a plaquetopenia. A leucopenia pode contribuir para a instalação de infecções, constituindo-se em importante causa dos óbitos verificados em doentes com beta talassemia maior. A plaquetopenia induz, por sua vez, o derramamento de sangue nasal (epistaxes) (WENNING, SONATI, 2007). Ainda, segundo Wenning e Sonati (2007), as conseqüências decorrentes de uma eritropoese ineficaz, da hemólise e do hiperesplenismo resultam em anemia grave com anóxia (podendo ocorrer infecções e o aparecimento de úlceras nas pernas), cardiopatias (que são importantes causas de óbito na talassemia maior), hipermetabolismo com emagrecimento, febre, aumento do nível de ácido úrico e gota, e a necessidade de transfusões repetidas de sangue. Estas transfusões causam o acúmulo de ferro e da ferritina, podendo ocorrer hepatopatias graves.

Outra situação fisiopatológica importante se deve à diminuição do nível de folato. Ocorre um quadro hematológico similar ao da anemia megaloblástica (VIVIANI, 2008). A diminuição do nível de folato provoca lesões ósseas características, como deformidades no crânio, maxilar e face, baixa estatura e a presença de massas extra-ósseas, ou metaplasias mielóides, com formações tumorais no mediastino e retroperitônio, além de acentuada esplenomegalia e hepatomegalia. (WENNING, SONATI, 2007)

Ditas todas as características genéticas e fisiopatológicas das betas talassemias, podemos classificá-las em:

a) Talassemia beta homozigótica (descrita também como beta talassemia maior ou "major"): Também conhecida como "anemia de Cooley", teve seu primeiro relato científico descrito 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 aumento do baço e deformidades dos ossos da face e do crânio. Destacaram ainda que as crianças tinham origem ancestral da região do mar Mediterrâneo, por serem de descendências italiana e grega. Posteriormente, com o aprofundamento dos estudos genéticos, passou-se a conhecer melhor as formas de transmissões hereditárias e os defeitos dos genes, e esta forma grave de talassemia foi denominada de beta talassemia homozigota (BONINI-DOMINGOS, 1993). Clinicamente, é caracterizada por grave anemia hemolítica, microcitose e hipocromia, icterícia, hepatoesplenomegalia progressiva e alterações ósseas, que ocorrem devido a intensa hiperplasia eritróide na medula óssea, em resposta ao processo hemolítico. A hiperplasia eritróide torna o córtex ósseo mais delgado (devido a expansão da cavidade medular), produzindo osteoporose e consequentes fraturas, além de tornar os ossos da face proeminentes. (LIMA et al., 2001)

O padrão de hemoglobinas nos pacientes com beta talassemia homozigota é variável, caracterizando-se pelo aumento de Hb Fetal (entre 40 a 90%). Muitos dos doentes afetados morrem na infância ou na adolescência (é quase sempre fatal antes dos 20 anos) podendo, conforme a atenção médica e terapêutica recebidas, alcançar a terceira década. Destacam-se, entre as principais causas de óbito, as infecções e insuficiências cardíacas, devido à deposição de ferro no miocárdio. O acúmulo de ferro é decorrente da extensa e prematura destruição dos eritrócitos, tanto daqueles que são continuamente produzidos para suprir a anemia hemolítica, quanto dos recebidos em transfusões sanguíneas frequentes e necessárias, bem como da absorção gastrointestinal aumentada do ferro recebido pela dieta alimentar (BONINI-DOMINGOS, 1993).

Os esfregaços de rotina revelam a presença de microcitose e hipocromia (que em geral não ocorrem em outras anemias hemolíticas, ajudando a diferenciar a beta talassemia maior de outras anemias), além de anisocitose, pecilocitose e a anisocromia, bem como ponteados basófilos, numerosas células em alvo, corpúsculos de Howell-Jolly, anéis de Cabot, policromasia, siderócitos, numerosos eritroblastos e outros sinais de regeneração eritrocítica. Nos esfregaços corados pela coloração vital (metil violeta), se encontram vários reticulócitos, além de inclusões intracitoplasmáticas, provenientes dos tetrâmeros de cadeias alfa desnaturados. (LIMA et al., 2001)

b) Talassemia beta heterozigótica (descrita como beta talassemia menor ou “traço talassêmico beta”): é caracterizada geneticamente pela herança de um único componente alterado, onde a redução da taxa de síntese da globina beta é menor, mas o suficiente para causar discreto grau de anemia hemolítica microcítica e hipocrômica, com aumento de resistência osmótica dos glóbulos vermelhos (BONINI-DOMINGOS, 1993). Apresenta-se como uma talassemia clinicamente assintomática, e caracteriza-se, além da discreta anemia hemolítica, em muitas vezes a ocorrência de policitemia (excesso de glóbulos vermelhos na circulação) hipocrômica e microcítica. (LIMA et al., 2001)

São indistinguíveis por exames laboratoriais de rotina. Entretanto, com a utilização da biologia molecular, com sondas específicas de DNA, podem-se diferenciar esses heterozigotos. Muitas vezes, a talassemia é mal diagnosticada e os pacientes são tratados inadequadamente, como se apresentassem anemia por deficiência de ferro. As manifestações clínicas, quando encontradas, variam entre os diferentes grupos raciais, e entre elas podemos citar astenia, cansaço e baço palpável. A artrite também pode ser encontrada em alguns casos. Os níveis de ácido fólico e vitamina B12 plasmáticos apresentam-se dentro dos limites normais em beta talassêmicos heterozigotos. (BONINI-DOMINGOS, 1993)

Em relação à presença discreta ou de nenhuma anemia, os esfregaços corados podem revelar as mesmas alterações eritrocitárias encontradas na talassemia maior, porém em graus muito menos intensos. (LIMA et al., 2001)

c) Talassemia beta intermediária (ou intermédia): Uma forma de talassemia  $\beta$  é clinicamente definida como intermediária quando se revela como uma anemia crônica moderada, podendo ter uma herança genética tanto homozigótica como heterozigótica, com níveis de hemoglobina entre 7 e 10g/dl, que se mantém espontaneamente sem necessidade transfusional contínua e na presença de esplenomegalia (BEZERRA, 2007). A beta talassemia intermediária pode decorrer da interação das talassemias alfa e beta, com redução concomitante e significativa de ambas as cadeias globínicas. Isso diminui o número de cadeias desemparelhadas e propicia uma redução na taxa de destruição dos eritrócitos em comparação com as formas graves de talassemias. A beta talassemia intermédia pode decorrer também de manifestações da beta talassemia com alguns tipos de hemoglobinas variantes, particularmente a Hb E, Hb S e Hb C. (BONINI-DOMINGOS, 1993)



As complicações clínicas da talassemia intermediária são decorrentes de três processos principais: eritropoese ineficaz, anemia crônica e sobrecarga de ferro. A gravidade clínica depende primariamente do defeito molecular no gene  $\beta$ . A diminuição da síntese de cadeias  $\beta$  leva a um desequilíbrio com as cadeias alfa. Excessos de cadeias alfa são extremamente instáveis e precipitam nos precursores eritróides da medula óssea, formando corpos de inclusão, que causam danos à membrana e morte celular, levando à eritropoese ineficaz. É importante enfatizar que, quanto menor for o desequilíbrio da síntese das globinas, menor será a taxa de globinas  $\alpha$  livres que precipitam dentro da hemácia e, conseqüentemente, menor será a taxa de eritropoese ineficaz, o grau de anemia e suas complicações clínicas. (BEZERRA, 2007)

#### **4.1.3 A Interação Alfa Talassemia / Beta Talassemia, HbS/Beta talassemia e outras raras anomalias genéticas nas cadeias de globina**

Conforme descrito anteriormente, uma das formas que a beta talassemia intermediária pode ocorrer é entre a interação das talassemias alfa e beta, com redução de ambas as cadeias globínicas. Esta interação entre as talassemias alfa e beta diminui o grau do desequilíbrio das cadeias de globina alfa/beta, modificando inclusive os quadros clínicos e hematológicos.

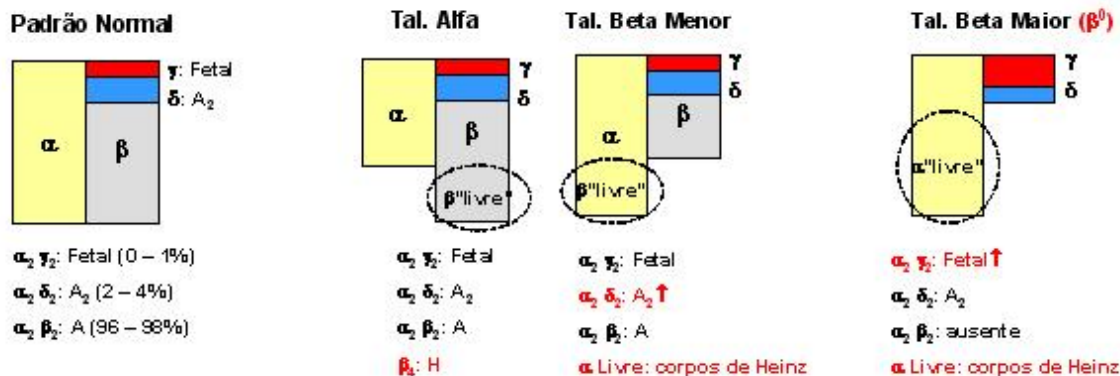
De acordo com Naoum (1997), a maioria das talassemias obedece ao modelo de herança mendeliana, caracterizado pela falta de sintomas clínicos nos heterozigotos e pela gravidade clínica nos homozigotos. Estes quadros clínicos, e suas principais alterações clínica-laboratoriais, podem ser observados na tabela 2. Já a figura 2 mostra como é a síntese normal das hemoglobinas em comparação com talassemias alfa, beta menor e beta maior:

**Tabela 2 - Classificação clínica das talassemias**

| Alterações Clínico-Laboratoriais | Talassemias |            |        |         |
|----------------------------------|-------------|------------|--------|---------|
|                                  | Maior       | Intermédia | Menor  | Mínima  |
| Hb (g/dl)                        | < 7         | 7 – 10     | 10 –13 | 11 – 15 |
| Reticulócitos (%)                | 3 – 20      | 3 – 10     | 2 – 5  | 1 – 2   |
| Eritroblastos                    | +++         | ++/+       | –      | –       |
| Aniso-poiquilocitose             | ++++        | +++        | ++/+   | +/-     |
| Icterícia                        | ++          | +/-        | –      | –       |
| Esplenomegalia                   | +++         | ++         | +/-    | –       |
| Alterações ósseas                | +++         | ++         | –      | –       |
| Dependência de transfusões       | +++         | +/-        | –      | –       |

+: pouco; ++: moderado; +++: acentuado; ++++ muito acentuado; -: ausente.

Fonte: (NAOUM, 1997)



Fonte: (NAOUM, 1997)

**Figura 2 - Esquema ilustrativo da síntese normal para hemoglobinas em comparação com talassemias alfa, beta menor e beta maior**

A interação entre Hb S (anomalia na hemoglobina responsável pela anemia falciforme) e talassemia beta foi descrita pela primeira vez por Ida Bianco e Ezio Silvestroni em 1954. Esses pesquisadores observaram que alguns dos seus pacientes apresentavam anemia variando de graus moderado a grave, com a presença de células falciformes e microcíticas, e por essa razão a anemia foi denominada de "microdrepanocitose" (NAOUM, 1997). Ainda, de acordo com o autor, a Hb S / Talassemia Beta pode ser diferenciada laboratorialmente por meio de eletroforeses alcalina e ácida em dois genótipos: SF e SFA. Em ambos os casos a concentração da Hb S é sempre maior que as outras hemoglobinas.

Além dessas interações, há outras anomalias genéticas nas cadeias de globina, algumas delas raras, como a que ocorre na formação da Hemoglobina de Lepore. Esta é uma hemoglobina anormal, constituída de duas cadeias alfa normais e duas cadeias de fusão delta-beta anômalas. Esta anomalia genética poderia ser classificada como síndrome talassêmica, devido a grande limitação na síntese de cadeias de globinas, porém, elas diferem pela formação de cadeias anômalas, as de fusão beta-delta. Apresenta-se nas formas heterozigóticas e homozigóticas. A forma heterozigótica manifesta-se com um quadro clínico semelhante ao da talassemia menor (a eletroforese revela a presença de HbA e cerca de 10% de Hb Lepore). Já a forma homozigótica apresenta um quadro clínico e hematológico semelhante ao da talassemia maior (com presença somente de HbF e Hb Lepore, com ausência de HbA) (LIMA et al., 2001). Podemos ver melhor estes quadros hematológicos na figura 3:



**Fonte:** (NAOUM, 1997)

**Figura 3** - Eletroforese de hemoglobinas em agarose alcalina mostrando em (1) Hb Lepore heterozigota com concentração de 5%; (2) Hb Lepore homozigota, com Hb Fetal  $\pm$  70%, Hb Lepore  $\pm$  15%, Hb A (transfundida)  $\pm$  15%, e traços de Hb A<sub>2</sub>; (3) Hb SF de um paciente com Hb S/beta<sup>0</sup> talassemia, com globinas alfa livre; (4) Hb AC.

Outra anomalia genética que pode ser citada é a persistência hereditária da HbF. A persistência de HbF (hemoglobina fetal) hereditária na vida adulta é descrita como uma anomalia não talassêmica, clinicamente assintomática, que ocorre em cerca

de 0,1% dos negros norte-americanos e em gregos, podendo se apresentar nas formas homozigótica e heterozigótica. Na forma homozigótica (HbF/HbF) manifesta-se por leve anemia, com anisocitose, pecilocitose e microcitose discreta e presença de algumas células em alvo. A eletroforese revela cerca de 100% de HbF, que se distribui uniformemente entre os eritrócitos. Já sua forma heterozigótica (HbA/HbF) é clínica e hematologicamente assintomática. (LIMA et al., 2001)

#### **4.1.4 Beta / Delta Talassemia**

As talassemias beta-delta são anomalias genéticas da talassemia beta homozigótica devido ao bloqueio da síntese das cadeias beta e delta, da HbA e da HbA<sub>2</sub>, respectivamente. As cadeias alfa em excesso combinam com as cadeias gama, formando quantidades variáveis de HbF através do gene do tipo alto para a HbF. (LIMA et al., 2001)

Esta forma de talassemia é rara. Casos são mais comuns na região do Mediterrâneo (região siciliana), mas outras formas foram descritas em famílias do sudeste asiático, leste europeu, afro-americanas, turcas, indiana, espanholas e do Japão (ANDRADE, 2006). Manifesta-se clinicamente por anemia hemolítica moderada, compatível com a vida, muito mais atenuada que a da talassemia beta homozigótica. A eletroforese revela a presença de 5 a 20% de HbF e concentrações mais ou menos normais de HbA<sub>2</sub>. (LIMA et al., 2001)

Ainda, vale ressaltar que nessa forma de talassemia, a HbF distribui-se desigualmente entre os eritrócitos, diferente do que acontece na anomalia genética não-talassêmica, cuja a persistência hereditária da HbF tem distribuição uniforme. (LIMA et al., 2001)

## **4.2 Epidemiologia das talassemias**

As anemias hereditárias, em especial as talassemias, são alterações genéticas da hemoglobina decorrentes da produção de moléculas estruturalmente anormais ou pelas sínteses deficientes de globina alfa ou beta normal. São as alterações genéticas mais frequentes nas populações humanas. De acordo com estudos realizados, a prevalência mundial está estimada em 7% da população e a cada ano ocorrem entre 300 mil e 400 mil nascimentos de crianças homozigotas com a forma grave dessas

patologias. As hemoglobinas variantes e as talassemias apresentam distribuição geográfica bastante diversificada na África, Ásia, Europa e nas Américas, apesar de originalmente estarem confinadas às regiões tropicais e subtropicais. (MELO-REIS et al., 2006)

As talassemias estão entre as primeiras doenças que foram estudadas pelos métodos de biologia molecular e permanecem como primeiro modelo para o entendimento da relação entre patologia molecular e diversidade fenotípica. Já foram descritos mais de 200 alelos mutantes, sendo que cada população tem o seu espectro próprio, comum ou alguns alelos predominantes. (SONATI, COSTA, 2008)

No Brasil, há indícios de que a forma mais comum de talassemia, a beta talassemia, tenha sido introduzida em nosso meio a partir de 1885, principalmente pelos maciços contingentes de imigrantes italianos que se estabeleceram no Sul e no Sudeste do Brasil. Devido ao aumento dos movimentos migratórios ocorridos em diversas regiões, com conseqüente miscigenação, portadores heterozigotos falcêmicos e talassêmicos se difundiram em áreas antes tidas como não endêmicas, como no continente americano e no norte da Europa. (RAMALHO, 1986)

Atualmente no Brasil, são notificados mais casos de talassemia  $\beta$ , sendo a maioria casos de beta talassemia maior, seguido de beta talassemia intermediária, além de casos que apresentam a interação anemia falciforme / beta talassemia (S/ $\beta$  talassemia). A região Sudeste apresenta um grande número de indivíduos com beta talassemia maior e intermediária, totalizando mais da metade dos casos observados no Brasil. O estado de São Paulo é o local onde há a maior concentração da doença no Brasil. O Nordeste é a segunda região do Brasil com casos de beta talassemia maior e intermediária. (MELO-REIS et al., 2006)

A alfa talassemia tem uma incidência elevada entre os povos asiáticos, e sua ocorrência foi assinalada na Indonésia, Malásia, Ceilão, Filipinas, Índia, China, Tailândia e Camboja. É também encontrada no Oriente Médio (Iêmen, Iraque, Líbano, Turquia e Arábia Saudita) e na região do Mediterrâneo, principalmente na Grécia e na Itália. No continente africano, a alfa talassemia tem distribuição praticamente universal. Já na América Latina, a alfa talassemia foi detectada no México, Cuba, Jamaica, Colômbia, Peru e Costa Rica. No Brasil, os dados a respeito da alfa talassemia são escassos. São conhecidos poucos casos de Doença de Hb H, e nos levantamentos populacionais existentes não foram utilizadas metodologias adequadas para detecção

de alfa talassemia, ou a população estudada não era uma população selecionada. (CASTILHO et al., 1987)

A ocorrência das talassemias no Brasil tem sido estudada ao longo do tempo. Entretanto, por causa das limitações nas metodologias utilizadas em muitas pesquisas, os dados de prevalência e diversidade são por muitas vezes incompletos. Além disso, como consequência da composição étnica do nosso país, miscigenada por elementos de origens européia, africana, asiática e indígena, e desigualmente distribuída, a incidência da talassemia pode variar de região para região. (RAMALHO et al., 1985)

#### **4.3 Fisiopatologia e sintomas das talassemias**

Em se tratando de talassemias, uma característica comum deste grupo de afecções é a limitação, em graus variáveis, da síntese de uma das cadeias polipeptídicas normais da globina, mas com formação de cadeias estruturalmente normais. A limitação da síntese pode ocorrer nas cadeias alfa da HbA, da HbA<sub>2</sub>, da HbF ou da Hb Gower 2, assim como nas cadeias beta da HbA e nas cadeias delta da HbA<sub>2</sub>, dando origem, respectivamente, às talassemias alfa, beta e beta-delta (LIMA et al., 2001). A fisiopatologia das talassemias, tanto em nível celular quanto clínico, representa uma consequência direta do desequilíbrio na síntese das cadeias de globina. O acúmulo destas afeta os componentes da membrana dos eritrócitos e também o estado de hidratação celular. (BEZERRA, 2009)

Na beta talassemia, a produção deficiente de globinas beta durante a eritropoiese leva a anemia. As cadeias alfa não incorporadas ao tetrâmero, em excesso, formam agregados insolúveis e instáveis que lesam a membrana e levam a destruição prematura das células. Esse processo ocorre tanto nos precursores eritróides imaturos (eritropoiese ineficaz) quanto nas células maduras (hemólise), levando a anemia. A eritropoiese ineficaz é mediada por apoptose: as células em morte programada sinalizam aos macrófagos, provavelmente através da exposição de fosfatidilserina na superfície da membrana, e são por eles fagocitadas (RAMALHO et al., 1985). Por outro lado, as hemácias que entram na circulação contêm inclusões que causam lesões à medida que elas atravessam a microcirculação, ocasionando hemólise extravascular, principalmente no baço. (BONINI-DOMINGOS, 1993)

Já em relação à membrana, várias anormalidades de estrutura e função têm sido descritas. Há o aumento de fosfolípidios e de colesterol, do fluxo de cátions e da permeabilidade ao cálcio. As membranas são mais rígidas e mais instáveis, provavelmente em razão da ligação das cadeias alfa oxidadas à proteína 4.1. A viscosidade citoplasmática das hemácias na beta talassemia também é aumentada, como consequência da desidratação celular, envolvendo os sistemas controladores dos fluxos de íons e água, anormalmente ativados. Embora com menor conteúdo intracelular de Hb, hemácias talassêmicas podem apresentar valores de densidade tanto menores quanto maiores que hemácias normais. (BONINI-DOMINGOS, 1993)

Na talassemia alfa, as membranas eritrocitárias são hiperestáveis e não apresentam alterações oxidativas na proteína 4.1. Além disso, o acúmulo de cadeias beta leva a um aumento da hidratação celular, diferentemente do que ocorre com o excesso de cadeias alfa na talassemia beta. Uma importante característica da talassemia alfa é a capacidade das cadeias que se encontram em excesso (gama e beta) se agruparem para formar homotetrâmeros (Hb de Bart's e Hb H, respectivamente) que são solúveis e não precipitam nos precursores das hemácias na medula óssea, não ocasionando eritropoiese ineficiente. Entretanto, a Hb H precipita nos eritrócitos mais maduros formando corpos de inclusão, e estas células são então removidas da circulação pelo baço e outros órgãos do sistema reticuloendotelial, provocando anemia hemolítica. (BEZERRA, 2009)

A anemia, nas formas mais severas da talassemia alfa nos adultos, é resultante da menor sobrevivência das hemácias na circulação e da reduzida quantidade de hemoglobina, originando microcitose e hipocromia. Além destas características, as Hb de Bart's e H apresentam uma elevada afinidade ao oxigênio, tornando-as sem utilidade fisiológica para transportá-lo, uma vez que não liberam o oxigênio eficientemente para os tecidos. (BEZERRA, 2009)

Hemácias talassêmicas têm uma taxa de destruição de 10 a 15 vezes maior que a observada em hemácias normais. Há uma tentativa de compensação pela medula óssea, com aceleração da produção de eritrócitos, porém insuficiente para evitar a anemia grave. A liberação do heme nas células lisadas, a absorção gastrintestinal de ferro aumentada (em razão do aumento da eritropoese e da inadequada supressão de hepcidina, uma proteína reguladora da absorção intestinal de ferro), aliadas ao regime regular de transfusões sanguíneas, levam a sobrecarga de ferro encontrada nestes pacientes. O ferro, altamente oxidativo, causa a formação de

radicais livres tóxicos, com peroxidação lipídica das membranas, seguida de lise. A saturação da transferrina resulta em níveis aumentados de ferro livre no plasma, afetando vários órgãos, particularmente o coração. (RAMALHO et al., 1985)

Na beta talassemia, a insuficiência cardíaca secundária a hemocromatose (depósito de ferro nos tecidos em virtude de seu excesso no organismo) responde pela maioria das mortes observadas. Anemia, sobrecarga de ferro, doença pulmonar, miocardite e pericardite estão entre as causas das complicações cardíacas. Vários estudos com cardiomiócitos em cultura têm revelado que a toxicidade causada pelo ferro modifica profundamente a contratilidade e o comportamento eletrofisiológico destas células, e que essas alterações estão provavelmente associadas à elevada peroxidação dos lipídeos da membrana celular. (RAMALHO et al., 1985)

Eventos tromboembólicos também ocorrem na beta talassemia. Esta hipercoagulabilidade pode ser causada por uma série de fatores: aumento da exposição da fosfatidilserina na membrana eritrocitária, ativação das plaquetas, por uma maior aderência das hemácias talassêmicas ao endotélio, por uma expressão aumentada de moléculas de adesão nas células endoteliais dos pacientes talassêmicos e por ativação dos monócitos. Ainda, os níveis das proteínas anticoagulantes C, S e da antitrombina parecem estar reduzidos nesses casos. (NAOUM, 1984)

Anemia crônica e sobrecarga de ferro também contribuem para as alterações endócrinas observadas nos indivíduos talassêmicos. A glândula pituitária, as gônadas, o pâncreas, e as glândulas tiróide, paratireóides e adrenais estão afetadas, e diabetes, hipogonadismo, osteopenia e osteoporose são comuns. As fraturas frequentes, em casos inadequadamente tratados, devem-se a expansão medular para compensação da eritropoiese ineficaz, disfunção endócrina e complicações relativas à própria terapia contra a sobrecarga de ferro. (NAOUM, 1984)

Há várias anormalidades funcionais pulmonares descritas em pacientes beta talassêmicos, que parecem ser, em parte, também causadas pelos depósitos de ferro, associado à geração de radicais hidroxila livres, alteração do tecido conectivo e da membrana capilar alveolar. Hipercoagulabilidade e tromboembolismo plaquetário também tem sido associados à hipertensão pulmonar observada nos pacientes talassêmicos, mais pronunciada naqueles que foram esplenectomizados. (NAOUM, 1984)



#### 4.4 Tratamento

No que envolve as talassemias, principalmente a talassemia maior (beta-talassemia homozigótica, forma mais comum e mais grave de anemia hemolítica herdada), o tratamento atualmente empregado envolve a terapia transfusional regular, para manutenção dos níveis mínimos de Hb entre 9,5-10 g/dL (SONATI, COSTA, 2008). Geralmente são utilizadas hemácias lavadas e concentradas para minimizar a possibilidade de reações transfusionais, e quando indisponíveis, podem ser substituídas por células leucofiltradas. A frequência e a quantidade destas transfusões vão depender do tamanho da criança ou adolescente, geralmente 10 a 15 ml de concentrado de hemácias por kg do peso corporal, a cada duas ou três semanas (NETTINA, 2003). Outros tratamentos também são utilizados, como a administração de quelantes de ferro (desferroxamina ou outros quelantes orais), além do monitoramento da sobrecarga de ferro através de dosagens séricas de ferritina, e utilização da ressonância magnética para avaliação do excesso de ferro no coração e de suporte endócrino. (SONATI, COSTA, 2008)

A terapia de quelação de ferro com desferroxamina reduz os efeitos colaterais tóxicos do excesso de ferro, aumentando assim a excreção deste na urina e fezes. São feitas infusões subcutâneas de 50 mg/kg por dia, em torno de 12 horas, durante a noite na terapia domiciliar. Estas infusões podem ser feitas também no hospital, durante a transfusão sanguínea, principalmente para indivíduos com alto nível de ferritina e má complacência com a terapia de quelação domiciliar. Sendo assim, aumenta-se de 100 a 150 mg/kg por dia o nível destas infusões. (NETTINA, 2003)

Como a desferroxamina requer infusão parenteral diária e prolongada, novos agentes quelantes tem sido testados e propostos. A deferiprona é uma droga de administração oral que penetra na membrana celular e quela espécies intracelulares tóxicas de ferro. Alguns efeitos adversos têm sido relatados, como leucopenia, neutropenia e artrite, mas um grande número de estudos clínicos indica que ela pode ser mais efetiva na remoção do ferro cardíaco que a desferroxamina. (SONATI, COSTA, 2008)

Por fim, se em nenhum destes tratamentos surgem efeitos positivos, o resultado final provavelmente será a esplenectomia (remoção do baço), seguido de tratamento de apoio perante as complicações. Uma outra possibilidade constitui no

transplante de medula óssea, entretanto, a taxa de sobrevida é muito baixa. Os pacientes jovens e com poucas complicações são bons candidatos. (NETTINA, 2003)

O prognóstico da beta talassemia homozigótica é ruim em quase todos os casos, vindo o paciente a falecer geralmente ainda na infância (mais grave somente a alfa talassemia homozigótica, onde o feto já nasce morto, ou vem a falecer pouco depois). Com o emprego de transfusões sanguíneas repetidas, muitos pacientes chegam à puberdade, mas irão apresentar complicações viscerais graves, decorrentes do acúmulo de ferro, tais como lesões cardíacas, endócrinas e hepáticas. Geralmente, os pacientes não sobrevivem ao início da vida adulta. Como se trata de uma doença genética herdada, não existe cura para as talassemias. (SONATI, COSTA, 2008)

#### **4.5 Diagnósticos das talassemias**

O Comitê Internacional de Padronização em Hematologia lançou em 1975 um painel de recomendações visando o diagnóstico e a investigação laboratorial das hemoglobinas anormais e talassemias. Este painel é utilizado até os dias de hoje, sendo que os testes iniciais recomendados incluem quantificação dos eritrócitos e demais índices hematimétricos, dosagem de ferro e ferritina, eletroforese de hemoglobina em meio alcalino, teste de solubilidade, falcização e quantificação de HbA2 e HbF. Se alguma hemoglobina anormal for identificada, aplicam-se técnicas de maior resolução: eletroforese de hemoglobinas (ou simplesmente “eletroforese de globinas”), cromatografia líquida de alta performance (HPLC), focalização isoelétrica (IEF), e análise molecular por reação em cadeia da polimerase (PCR). (BONINI-DOMINGOS, 1993)

O hemograma sempre é importante. Além dos índices hematimétricos fornecidos pelo exame que expressam informações valiosas para a triagem de hemoglobinas variantes (geralmente, o VCM (volume corpuscular médio) e o HCM (hemoglobina corpuscular média) estão reduzidos), a visualização ao microscópico do esfregaço sanguíneo também auxilia bastante. Por exemplo, a beta talassemia major revela anisocitose pronunciada, poiquilocitose e numerosos eritrócitos pequenos e praticamente incolores, enquanto a beta talassemia minor mostra hipocromia, microcitose, pontilhado basófilo e células em alvo. No caso de alfa talassemia, observam-se corpos de Heinz e agregados de hemoglobina H. (MENDES, 2004)

O diagnóstico das síndromes talassêmicas e de outras hemoglobinopatias é baseado principalmente na identificação das hemoglobinas anormais presentes nos eritrócitos. Uma das provas mais importantes para essa identificação é a eletroforese de hemoglobina. Outras provas complementares permitem caracterizar certas hemoglobinas anormais, seja pela suas propriedades físicas, químicas e funcionais, como as alterações morfológicas, produzidas nos eritrócitos (drepanocitose, formação de inclusões, células em alvo e outras) ou pelas alterações funcionais e físico-químicas (solubilidade, precipitação, desnaturação alcalina, calor, eluição ácida e outras). (LIMA et al., 2001)

A eletroforese de focalização isoeletrica (IEF) permite separação muito satisfatória das principais hemoglobinas anormais, bem como de algumas variantes raras, já que não existe um único método atualmente disponível capaz de identificar todas as numerosas variantes de hemoglobinas identificadas. Neste método, há como observar a presença da HbS e de outras variantes como a Hb Lepore, que podem confundir o diagnóstico de talassemia. Métodos de avaliação para a detecção de hemoglobinas normais incluem ainda teste de solubilidade, eletroforese em pH alcalino e ácido e cromatografia líquida e alta performance (HPLC). Estas técnicas apresentam vantagens e limitações para a separação de hemoglobinas. (MENDES, 2004)

Outra metodologia muito importante no diagnóstico das talassemias é a análise molecular por reação em cadeia de polimerase, a PCR (do inglês “polymerase chain reaction”), que consiste na amplificação seletiva de um fragmento de DNA, permitindo obter-se uma multiplicação exponencial de uma seqüência do DNA escolhida no meio da qual se encontra a mutação. O princípio do método consiste em utilizar dois oligonucleotídeos, construídos artificialmente, e que sejam complementares às extremidades escolhidas de uma determinada região onde ocorre a mutação (ou com seqüência normal) e uma polimerase, a “Taq polimerase”. Após a amplificação, a mutação pode ser caracterizada por uma das técnicas atualmente em uso e na dependência das condições laboratoriais de cada centro de pesquisa. A ampliação permite determinar diretamente a seqüência do DNA amplificado e o sítio de uma mutação. (NAOUM, 1997)

O sucesso do diagnóstico depende também do tipo de talassemia. O diagnóstico dos heterozigotos da beta talassemia é determinado pela elevação dos níveis da Hb A2, seguida ou não de pequeno aumento da Hb F. Os homozigotos  $\beta^0 \beta^0$  apresentam apenas as Hb A2 e F (cerca de 98%), enquanto os homozigotos  $\beta^+ \beta^+$  e

duplos heterozigotos  $\beta^0 \beta^+$  possuem uma proporção variável de Hb F em relação a Hb A, geralmente entre 40 e 70%. Diferentemente do doente com beta talassemia homozigota (ou maior), que padece de anemia grave e outras situações clínicas, o portador da beta talassemia heterozigota (ou menor) é quase sempre assintomático e fisiologicamente adaptado a essa situação. Assim, se há alguma dificuldade em se estabelecer o diagnóstico laboratorial com segurança, certamente esta situação ocorre entre os heterozigotos. (MENDES, 2004)

O diagnóstico das alfa talassemias apresentam dificuldades. Os heterozigotos da alfa  $^0$  e alfa + talassemia e os homozigotos da alfa + talassemia só podem ser diagnosticados na vida adulta por análise de DNA, pois a Hb Bart's desaparece após o período neonatal; além disso, a pouca quantidade produzida nos heterozigotos da alfa+ talassemia (1-3%) pode muitas vezes não ser detectada pelos métodos rotineiramente empregados. A microcitose e a hipocromia são alterações hematológicas quem não podem ser consideradas como exclusivas da talassemia alfa, uma vez que são características das demais talassemias, como as beta talassemias, da anemia ferropriva e, eventualmente, ocorrem nas anemias das doenças crônicas. (BORGES, 2000)

A confirmação da alfa talassemia deve ser realizada de forma cuidadosa e com a utilização de diferentes metodologias. A eletroforese em pH alcalino permite a visualização de bandas de Hb H, sugerindo alfa talassemia, a suspeita pode ser confirmada pela pesquisa intraeritrocitária de Hb H em amostras coradas com azul de cresil brilhante a 1%. (MENDES, 2004)

Por fim, é de grande valia para o diagnóstico lembrar importância de diferenciar o caráter talassêmico da deficiência de ferro. Isso se deve ao fato de que esta última se beneficia da terapia com ferro, enquanto a primeira pode ser agravada por esse tratamento. Pelo hemograma apenas, não é possível apontar tal diferença. Faz-se necessário a dosagem de ferro sérico e ferritina para a elucidação. (NAOUM, 1997)

## 5- DISCUSSÃO

As talassemias são ocasionadas pela redução ou ausência de síntese das cadeias, levando ao acúmulo daquela cadeia cuja produção está preservada. As cadeias acumuladas precipitam e acabam por lesar a membrana das hemácias, levando à destruição prematura dos eritrócitos. Dentre as talassemias, as mais conhecidas são as  $\alpha$  e  $\beta$ , pela frequência e manifestações clínicas de considerável importância nos portadores, já que as cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  formam a hemoglobina A.

Nas talassemias, há uma alteração genética que impede que as cadeias de proteínas sejam formadas em quantidade adequada. São, portanto, alterações quantitativas da formação da hemoglobina. Se o defeito genético é na formação das cadeias alfa, as doenças daí derivadas são as alfa talassemias. Caso o defeito seja na formação das cadeias beta, temos as beta talassemias. São as desordens monogênicas de maior frequência na população mundial, sendo que a doença mostra uma grande diversidade genotípica e fenotípica.

O quadro clínico das pessoas que possuem estes genes defeituosos (tanto das cadeias alfa como beta) é extremamente variável, dependendo da carga genética e se estes pacientes possuem a variante homozigótica ou heterozigótica. De uma maneira simplificada, podemos separar estas situações em dois quadros clínicos completamente diferentes: as talassemias menores (heterozigóticos) ou as talassemias maiores (homozigóticos).

Nas talassemias menores há discreta anemia, com a qual o indivíduo pode conviver, e é compatível com uma vida normal, ou em alguns casos, nem a anemia existe. Muitas vezes o diagnóstico é feito de forma acidental. Os pacientes com talassemias menores não necessitam tratamento na maioria das vezes. Em certas situações, como durante a gestação, recomenda-se uma suplementação da dieta com ácido fólico.

As talassemias maiores, um quadro mais raro, a anemia é severa e se inicia nos primeiros meses de vida, podendo vir acompanhada de pele e mucosas amareladas (icterícia), deformidades ósseas e baço aumentado. O tratamento da talassemia maior é um grande desafio ao médico. Inclui um programa de transfusão de sangue permanente, retirada do baço em alguns casos, e tratamento com quelantes para retirar excesso de ferro decorrente das múltiplas transfusões. Em pacientes que

dispõem de um doador de medula compatível, esse tipo de procedimento pode estar indicado.

A ocorrência das talassemias no Brasil tem sido estudada ao longo do tempo, porém, por causa das limitações nas metodologias utilizadas em muitas pesquisas, os dados obtidos muitas vezes são incompletos. Além disso, como consequência da composição étnica do nosso país, miscigenada por indivíduos de origens européia, africana, asiática e indígena, e desigualmente distribuída, a incidência da talassemia pode variar de região para região. Entre as talassemias, o tipo mais comum no Brasil (e no mundo) é a beta talassemia, que afeta a produção de hemoglobina A1, a mais importante no corpo do adulto (97% do total).

Os estudos de genética molecular, associados às análises de síntese “in vitro” de cadeias de globinas e quantificação de ácido ribonucléico (RNA) mensageiro de cadeias alfa e beta, facilitaram ainda mais o esclarecimento das anormalidades moleculares das talassemias. Ainda, no futuro, estima-se que as talassemias sejam uma das doenças em que a terapia gênica deverá estar disponível no futuro.

## 6- CONCLUSÃO

A prevalência das talassemias na população mundial é variável. No Brasil, a prevalência desta patologia difere entre as várias regiões brasileiras, pois está intimamente ligada ao processo de formação étnica de cada uma delas. Sendo assim, os casos suspeitos de talassemias devem ser pesquisados habitualmente em todos os pacientes que tenham ou não alteração no hemograma, uma vez que quanto mais precocemente for realizado o diagnóstico, seguido de acompanhamento médico e aconselhamento genético, mais chances de diminuição da morbidade, mortalidade e transmissão gênica.

Considerando que pacientes com síndromes talassêmicas apresentam muitas vezes quadros clínicos distintos, que dificultam a abordagem terapêutica, a identificação de padrões biológicos e genéticos desta doença é muito útil e de grande impacto na melhoria da sobrevida e da qualidade de vida dos doentes. Torna-se necessário definir quais das variantes da talassemia serão primordialmente visadas em qualquer investigação a respeito desse tipo de hemoglobinopatia. Isso porque cada uma das variedades desta patologia exige uma abordagem específica. As considerações clínicas do médico devem ser o ponto de partida para a suspeita desses casos. Uma abordagem correta do médico pode, por exemplo, evitar a administração desnecessária de ferro, além de consultas médicas e exames laboratoriais sem necessidade, que podem ter custo ao paciente.

O maior conhecimento da base biológica e genética das talassemias e dos seus mecanismos fisiopatológicos tem propiciado importantes avanços nas abordagens terapêuticas e na prevenção de novos casos. Isso pode proporcionar, em um futuro próximo, possibilidades mais concretas de tratamento e prevenção dessas doenças. O objetivo final, uma cura completa da talassemia, vem sendo buscada através de pesquisas e estudos de engenharia genética, das quais usam amplamente a biologia molecular. Enquanto esta cura não é possível, os governos deveriam obrigatoriamente oferecer aos pacientes talassêmicos o mais completo sistema de tratamento disponível. Infelizmente, nem sempre esta é a realidade vigente.

## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade TG. Mecanismos reguladores da síntese de globinas: avaliação funcional da região R/PYR e análise da expressão gênica diferencial na persistência hereditária de hemoglobina fetal e na delta-beta talassemia [dissertação]. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. 2006;194p.

Bezerra CM. Diagnóstico molecular da talassemia alfa+ (deleção-a3.7) em indivíduos com microcitose e/ou hipocromia atendidos no Hemocentro Dalton Barbosa Cunha em Natal, Rio Grande do Norte [dissertação]. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2009;92p.

Bezerra MAC. Aspectos clínicos, bioquímicos e moleculares das síndromes talassêmicas em população do Estado de Pernambuco [dissertação]. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. 2007;141p.

Bonini-Domingos CR. Hemoglobinopatias no Brasil: variabilidade genética e metodologia laboratorial [dissertação]. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. 1993;232p.

Borges E. Contribuição da Talassemia  $\alpha$  como causa de microcitose e hipocromia em uma população brasileira [dissertação]. Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. 2000;66p.

Castilho EM et al. Prevalência de talassemia alfa em pacientes com anemia e em pessoas sem anemia. Rev Patol Clin. 1987;23:31-44.

Lima AO et al. Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação. 8ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2001;cap.21:28-30.

Melo-Reis PR et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil. J Bras Patol Med Lab. 2006;42(6):425-430.

Mendes SFA. Contribuição para o estudo das alterações moleculares e interferentes na expressão fenotípica das hemoglobinopatias a partir de um programa de diagnóstico neonatal [dissertação]. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. 2004;150p.

Naoum PC. Anemias imigrantes: origem das anemias hereditárias no Brasil. Ciência Hoje. 1984; 3(14):59-64.

Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. Sarvier Livros Médicos, São Paulo. 1997;171-2.

Nascimento MLP, Borja MMP. Portadores de hemoglobina S: um estudo comparativo entre vários serviços de hemoterapia brasileiros e o impacto médico-social em Salvador, Bahia. Rev bras hematol hemoter. 1999;21(2):67-71.



Nettina SM. Brunner: Prática de enfermagem. 7ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2003;3:1510-13.

Oliveira GLV et al. Avaliação do perfil hematológico de portadores de talassemia alfa provenientes das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. Rev bras hematol hemoter. 2006;28(2):105-9.

Ramalho AS. As hemoglobinopatias hereditárias, um problema de saúde pública no Brasil. Rev. Bras. Genética. 1986;2:4-6.

Ramalho AS et al. Talassemia: um problema de saúde pública no Brasil? Rev. Bras. Genética. 1985;3(4):47-54.

Sonati MF, Costa FF. Genética das doenças hematológicas: as hemoglobinopatias hereditárias. J Pediatr. 2008;84(4 Supl):S40-51.

Viviani NM. Avaliação dos parâmetros bioquímicos e hematológicos associados ao estudo molecular para caracterização da  $\beta$ -talassemia heterozigótica [dissertação]. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 2008;92p.

Wagner SC et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev bras hematol hemoter. 2005;27(1):37-42.

Wenning MR, Sonati MF. Hemoglobinopatias hereditárias: diagnóstico e tratamento. Manole, São Paulo. 2007;310-342.

Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. Atheneu, São Paulo. 2001;309-318.