

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

FERNANDA PINESE MAURO

HEMOGLOBINOPATIAS E TALASSEMIAS: UMA REVISÃO

São José do Rio Preto, SP
2016

RESUMO

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças de caráter genético, caracterizadas pela síntese de cadeias polipeptídicas estruturalmente anormais ou diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina. O diagnóstico das hemoglobinopatias é realizado através da análise do eritrograma e da eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino. Esses dois exames, são de suma importância para o diagnóstico laboratorial. A quantificação dos eritrócitos fornece subsídios para a classificação laboratorial das anemias e a análise morfológica auxilia na classificação das causas e dos tipos de anemias. A eletroforese de hemoglobinas qualitativa determina a existência ou não de uma hemoglobina anormal, além das hemoglobinas normais, enquanto que o método quantitativo determina as porcentagens das hemoglobinas normais e anormais, determinando assim a intensidade da alteração. O objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão da literatura a respeito das hemoglobinopatias e talassemias. Concluiu-se através da literatura que a anemia falciforme e a talassemia são as duas hemoglobinopatias mais recorrentes no Brasil.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias. Eletroforese de hemoglobinas. Eritrograma. Talassemia.

1 – INTRODUÇÃO

1.1 HEMOGLOBINAS NORMAIS

A síntese da hemoglobina começa nos pró-eritroblastos e segue até mesmo no estágio de reticulócito, sendo que quando deixam a medula óssea e penetram na corrente sanguínea, essas células continuam formando pequenas quantidades de hemoglobina durante alguns dias. A hemoglobina localiza-se dentro das hemácias, tendo como função principal, promover a absorção do oxigênio, o transporte de O₂ dos pulmões para os tecidos e do CO₂ recolhido dos capilares teciduais para os pulmões (GUYTON & HALL, 2002).

A hemoglobina é formada pela combinação de duas partes, a porção que contém o ferro, o heme, que confere a hemoglobina a cor vermelha característica e a porção protéica, a globina, que é uma longa cadeia polipeptídica, constituindo a maior porção da molécula da hemoglobina. Sua formação é comandada por genes das células eritroblásticas, onde quatro diferentes genes codificam quatro diferentes cadeias polipeptídicas, formando a subunidade da hemoglobina, denominada cadeia de hemoglobina. Por sua vez, quatro dessas cadeias ligam-se fracamente para formar a molécula completa de hemoglobina. Existem diferentes tipos de cadeias de hemoglobinas, dependendo da composição de aminoácidos da porção polipeptídica, sendo elas, cadeias alfa (α), cadeias beta (β), cadeias gama (γ) e cadeias delta (δ). Por exemplo, a Hb A é a combinação de duas cadeias alfa e duas cadeias beta, sendo a forma mais comum de hemoglobina no ser humano adulto (GUYTON & HALL, 2002).

Os tipos de hemoglobinas variam nas diversas fases do desenvolvimento humano, ou seja, na fase embrionária, fetal e pós-nascimento. Desde os primeiros dias de gestação, as funções das hemoglobinas já são marcantes, adaptando-se constantemente ao desenvolvimento do embrião e do feto, até se estabilizarem seis meses após o nascimento. Nas primeiras quatro semanas do período embrionário, a Hb Gower-1 irá predominar, já até a décima segunda semana, os outros tipos de hemoglobinas presentes são a Hb Portland e Hb Gower-2. Após esse período, não ocorre mais síntese das hemoglobinas embrionárias, porém, algumas vezes podem continuar a ser sintetizadas em diminutas quantidades em recém-nascidos normais, e em altas quantidades em crianças com aberrações cromossômicas. Ainda no período embrionário começa a ser sintetizada a Hb Fetal, que vai substituindo gradativamente as hemoglobinas embrionárias, processo este que se completa após o terceiro

mês de gestação. A Hb A começa a ser sintetizada a partir da décima semana, apresentando concentrações próximas de 20% logo após o nascimento, já a Hb A₂ começa a ser sintetizada no final do período fetal e se estabiliza no sexto mês de vida, o que pode ser visto na Tabela 1, que mostra a composição básica dessas hemoglobinas e suas concentrações específicas nas diferentes fases do desenvolvimento humano (NAOUM, 1999).

Tabela 1 – Relação entre os diferentes tipos de hemoglobinas, composições estruturais e concentrações, de acordo com as fases de desenvolvimento ontogênico.

Fase da ontogênese	Hemoglobina	Estrutura	Concentração (%)
Embrionária	Gower – 1	$\zeta_2 \epsilon_2$	20 – 40
	Portland	$\zeta_2 \gamma_2$	5 – 20
	Gower – 2	$\alpha_2 \epsilon_2$	10 – 20
Fetal (*)	Fetal	$\alpha_2 \gamma_2$	90 – 100
Pós-nascimento	A	$\alpha_2 \beta_2$	96– 98
	A ₂	$\alpha_2 \delta_2$	2– 4
	Fetal	$\alpha_2 \gamma_2$	0 – 1

(*) Na fase fetal ocorre o início as sínteses da Hb A, não excedendo a 10% de concentração.

Fonte: Naoum, P. C. Eletroforeses: Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas, DNA. 2012.

De acordo com NAOUM e seus colaboradores, deve-se considerar hemoglobinas normais as três frações identificadas por Hb A, Hb A₂ e Hb Fetal em pessoas com idade superior a 6 meses, sendo que algumas características sobre essas três hemoglobinas normais devem ser ressaltadas.

A Hb A por ser a molécula mais representativa e evolutivamente a mais capacitada para as funções básicas, tais como, troca gasosa e participação na manutenção do equilíbrio ácido-básico, é considerada como padrão físico-químico, genético e molecular. Assim, todos os outros tipos de hemoglobinas normais (embrionárias e fetal) e variantes (Hb S, Hb C, Hb Instáveis, Hb com alterações fisiológicas, etc.) têm suas estruturas moleculares, atividades físico-químicas e genéticas, comparadas com as da Hb A (NAOUM, 2012).

A Hb A₂ é considerada como a hemoglobina mais estável sob o ponto de vista de estrutura molecular. Tem importância no teste de identificação de talassemia beta menor, pois em 95 % das pessoas portadoras desse tipo de talassemia, a Hb A₂ apresenta-se com concentração elevada (> 4,0% - 7,0%). Já, a diminuição da Hb A₂ abaixo de 2% de sua

concentração é indicativa de anemia ferropriva ou de talassemia alfa menor (Hb AH) (NAOUM, 2012).

A Hb Fetal é fisicamente menos estável que a Hb A. A elevação de Hb Fetal acima de 1,0% em pessoas com idade superior a 6 meses é indicativo de talassemia beta menor (Hb Fetal: > 1,0% - 5,0%, associada a anemia microcítica e hipocrômica de discreto grau) ou de persistência hereditária de Hb Fetal (Hb Fetal: > 1,0% - 20,0%, geralmente com eritrograma normal) ou, também, de talassemia beta maior (Hb Fetal acima de 20%, associada a anemia microcítica e hipocrômica de grave intensidade) (NAOUM, 2012).

1.2 HEMOGLOBINAS ANORMAIS

Atualmente existem mais de 700 tipos de hemoglobinas anômalas (considerando as hemoglobinas variantes e as hemoglobinas normais com alterações quantitativas) em todo o mundo. Algumas são mais relevantes clinicamente no Brasil pela sua prevalência, como a Hb S, Hb C, Hb D, Hb E e as hemoglobinas instáveis. As alterações que ocorrem nas globinas se devem às modificações nos genes responsáveis pelo sequenciamento e estrutura de cada tipo de polipeptídeo de globina, bem como naqueles destinados à regulação quantitativa da síntese equilibrada entre as globinas alfa e beta. Quando um determinado gene apresenta uma de suas bases nitrogenadas substituída por outra diferente, resulta na formação de moléculas de hemoglobinas com características bioquímicas alteradas em relação às hemoglobinas normais (A, A₂ e Fetal) e por isso são denominadas hemoglobinas variantes. As hemoglobinas anormais são aquelas consideradas variantes, bem como as hemoglobinas normais com alterações quantitativas, por exemplo: Hb A₂ elevada, Hb Fetal elevada e Hb A₂ diminuída (NAOUM, 2012).

1.2.1 Hemoglobinas Variantes Comuns no Brasil

- Hemoglobina S (Hb S) - é originada por uma substituição do aminoácido número 6 da cadeia beta, promovendo a troca do ácido glutâmico (Glu) pela valina (Val), por meio de um processo conhecido por mutação, é a doença hereditária monogênica mais comum no

Brasil, foi introduzida pelo tráfico de escravos e é encontrada predominantemente, mas não exclusivamente, entre negros e pardos;

- Hemoglobina C (Hb C) - é ocasionada pela substituição do aminoácido número 6 da globina beta, o ácido glutâmico, pela lisina (Lis), devido à diferença de carga elétrica envolvida, a globina β C tornou-se muito menos negativa, fato que sua mobilidade é muito lenta em eletroforese alcalina quando comparada com a Hb A, S ou Lepore e também foi introduzida pela população africana, porém sua relevância clínica é maior quando se apresenta em associação com a Hb S (SC);

- Hemoglobina D (Hb D) - é mais rara e também só se manifesta clinicamente quando em associação com a Hb S (NAOUM, 1999).

1.3 HEMOGLOBINOPATIAS

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças de caráter genético caracterizadas pela síntese de cadeias polipeptídicas estruturalmente anormais (variantes estruturais da hemoglobina, por exemplo, hemoglobina anormal, Hb S) ou diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina (talassemias) (LISOT; SILLA, 2004).

As hemoglobinopatias agrupam as hemoglobinas anormais que causam hemólise, policitemia, cianose e falcização. Entre essas quatro situações patológicas apenas a falcização ocorre unicamente da alteração da molécula da hemoglobina – a Hb S, enquanto as outras três podem também ser derivadas de outras causas (NAOUM, 1999).

1.3.1 Hemoglobinopatias mais Frequentes

1.3.1.1 Doença falciforme

As células falciformes são mais frágeis que os eritrócitos normais na corrente sanguínea e, sendo assim, apresentam sobrevida menor que o tempo médio de 120 dias. Os eritrócitos falcêmicos têm suas lesões intensificadas na relação direta com o aumento da

concentração da Hb S intra-eritrocitária, fazendo com que, na anemia falciforme, onde a concentração da Hb S é superior a 90%, o período médio de vida dos eritrócitos falcêmicos seja de aproximadamente 30 dias. As causas e consequências da falcização, se devem de uma forma geral à deformação patológica das células falciformes e à sua precoce destruição motivada pelo ataque da membrana celular por várias espécies de radicais livres gerados durante a degradação da Hb S desoxigenada. Como resposta fisiológica natural à reposição de eritrócitos precocemente retirados da circulação na doença das células falciformes, a eritropoese medular se torna hiperativa. Devido ao desequilíbrio anormal entre a produção de eritrócitos pela medula óssea e a destruição acentuada das células falcêmicas no sangue periférico, ocorre a liberação de células imaturas (reticulócitos) e jovens (eritroblastos) para o sangue circulante, resultando em reticulocitose e presença de eritroblastos no esfregaço de sangue periférico (NAOUM, 2012).

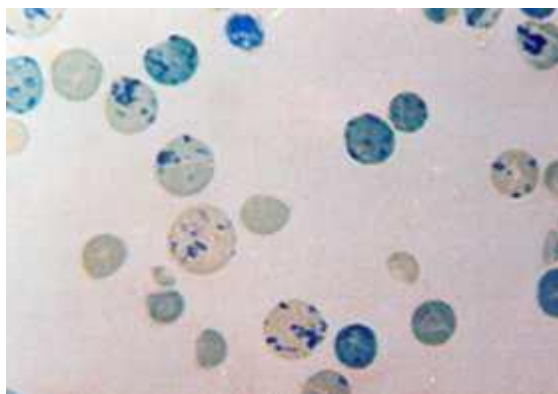


Figura 1: Microfotografia de reticulocitose em amostra de sangue periférico de paciente com anemia falciforme, caracterizando eritropoese acentuada.

Fonte: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/>

Na corrente sanguínea os eritrócitos falcizam e desfalcizam reversivelmente conforme ganham e liberam oxigênio, mas há células que geralmente, depois de seguidos processos de falcização e desfalcização, ao se falcizarem, assim permanecem, mesmo que haja oferta de oxigênio, que são as células falciformes irreversíveis (NAOUM, 2012).

Quando o número de células falcizadas irreversivelmente permanece abaixo de 5% do conteúdo total de eritrócitos em circulação, o fluxo da circulação de sangue não sofre descontinuidade no seu processo fisiológico. Porém, quando o número de células falcizadas irreversivelmente é maior que 5%, tem início o processo de alteração do fluxo sanguíneo. O excessivo número de eritrócitos falcizados irreversivelmente se caracteriza pela sua morfologia achatada e tentacular, fazendo com que sejam aderidos com maior facilidade ao

endotélio vascular, e entre elas próprias, promovendo a obstrução do fluxo sanguíneo, especialmente nos pequenos capilares que ligam as veias às artérias (NAOUM, 2012).

As consequências dessas oclusões vasculares são caracterizadas por pequenos infartos teciduais e dores agudas nas regiões atingidas. Vários fatores têm influência na intensidade das lesões, porém a concentração da deoxi-Hb S intra-eritrocitária se põe como principal indutor desse processo patológico, por essa razão, a diversidade clínica da doença das células falciformes é sempre motivo da necessária qualificação do genótipo da doença (NAOUM, 2012).

A doença falciforme (DF) inclui um grupo de hemoglobinopatias com interesse clínico significativo, caracterizada pela herança do gene falciforme em pelo menos um dos pais. A Hb S pode estar presente em homozigose (SS), mais conhecida como anemia falciforme, e em heterozigose (AS), conhecida como portadores do traço falciforme, que são os principais genótipos que compõem a DF. Além disso, o gene da hemoglobina S pode combinar-se com outras alterações hereditárias das hemoglobinas, como Hb C (SC) e Hb D (SD), bem como na interação com a talassemia beta (S/beta talassemia), gerando combinações que também são patológicas, denominadas doenças falciformes (DF) (NAOUM, 2012; SIMÕES *et al*, 2010).

A anemia falciforme é considerada a doença hereditária monogênica mais comum no Brasil, ocorrendo predominantemente entre os afro descendentes. Distribui-se heterogeneamente no Brasil, sendo mais predominante nos estados do Norte e Nordeste (SIMÕES *et al*, 2010). Os homozigotos para a Hb S (SS) apresentam uma anemia hemolítica crônica, onde as alterações clínicas e hematológicas são bem evidentes, a anemia hemolítica é causada por propriedades anormais da Hb S ou por crises sucessivas de falcização que levam a sua irreversibilidade da membrana da hemácia e destruição eritrocitária. Os indivíduos com anemia falciforme podem ser portadores também de talassemia alfa ou de persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) (NAOUM, 2012; SILVEIRA *et al*, 2008).

Porém, o caso considerado mais comum é a heterozigose, que é a presença concomitante da Hb S e Hb A (AS), considerado o portador do traço falciforme, onde a Hb S representa cerca de 25 a 45% da hemoglobina total, ou seja, sua concentração é menor que a de Hb A e geralmente são clinicamente assintomáticos e não apresentam alterações hematológicas (NAOUM, 2012; SILVEIRA *et al*, 2008).

De acordo com SIMÕES *et al*, o quadro clínico da doença falciforme pode ser bastante variável. As manifestações clínicas mais comuns incluem anemia, crises dolorosas agudas, síndrome torácica aguda, sequestro esplênico, acidente vascular cerebral (AVC) (cl clinicamente detectável ou silencioso), disfunção pulmonar e renal crônica, retardo de

crescimento e desenvolvimento sexual, levando a uma expectativa de vida reduzida. As causas de óbito mais comuns entre adultos com doenças falciformes são falência de órgãos, especialmente insuficiência renal, crise vaso-oclusiva aguda e AVC. A chance de ter um primeiro AVC aos 20, 30 e 45 anos é estimado em 11%, 15% e 25% respectivamente para pacientes com anemia falciforme (SS).

1.3.1.2 Hemoglobinopatia C

A Hb C é o segundo tipo de hemoglobinas anormais mais frequente no Brasil. É comum na região ocidental da África e em países onde a população negra é representativa. Em nossa população, sua prevalência média é 0,6% no estado de heterozigose (Hb AC), sendo que esses portadores heterozigotos são assintomáticos, não tem anemia e não apresentam evidência de aumento da destruição de eritrócitos, mas o esfregaço sanguíneo pode apresentar numerosas células em alvo (NAOUM, 1999).

Já os portadores homozigotos de Hb C (Hb CC) podem apresentar anemia hemolítica crônica moderada, esplenomegalia, muitas células em alvo, cristais de hemoglobina C, reticulocitose e baixo VCM. Entretanto, a maior parte destes portadores tem sido identificados ao acaso, por exemplo, quando encontra-se em um exame médico de rotina, uma esplenomegalia, que é comum nestes casos. Sendo assim, muitos pacientes com Hb CC podem ser completamente assintomáticos e até mesmo no esfregaço sanguíneo, os eritrócitos podem ser normocíticos e normocrômicos (NAOUM, 1999; ANGULO e PICADO, 2009).

1.3.1.3 Talassemias

As talassemias constituem um grupo heterogêneo de doenças genéticas causadas pela redução ou ausência da síntese de cadeias alfa e não alfa (beta, delta e gama) devido às reduções nos genes produtores de globina e que se caracterizam pela diversidade de manifestações clínicas e alterações hematológicas. A consequência dessa falha de produção é a de provocar deficiência de hemoglobinação e os eritrócitos apresentam-se microcíticos e hipocrômicos (CASTRO *et al*, 2008).

As formas mais comuns de talassemias se devem à redução de globina alfa ou de globina beta, que irão originar, respectivamente, as talassemias alfa e beta. Porém, há algumas situações mais raras, onde envolve a redução da síntese conjunta de globinas delta e beta (talassemia $\delta\beta$), ou de delta, beta e gama (talassemia $\delta\beta\gamma$). Em alguns casos, pode haver a redução total, ou seja, a ausência da síntese de globina alfa ou de beta, caracterizando, respectivamente, as talassemias α^0 ou β^0 , por outro lado, quando a redução é parcial denomina-se por talassemias α^+ ou β^+ (NAOUM, 2012).

Pode haver também, a ocorrência de interações entre as talassemias e as hemoglobinas variantes S, C e E, por serem as mais prevalentes respectivamente, nos continentes europeu, africano e asiático, originando combinações como: Hb S/ tal. β^0 ; Hb S/ tal. β^+ ; Hb C/ tal. β ; Hb S/ tal. α e Hb E/ tal. α (NAOUM, 2012).

1.3.1.3.1 Talassemia alfa (α)

A talassemia α está associada a síntese reduzida de cadeias de globina alfa e consequente aumento de concentração de cadeias beta, que pode ser desencadeada devido a vários defeitos genéticos que ocorrem nos genes de globina α e dependendo da extensão do dano do gene, a síntese de globina α apresenta diferentes intensidades de decréscimos chegando até a ausência total de síntese. Devido esse desbalanceamento entre as sínteses de globina α e β há o surgimento de uma hemoglobina no adulto conhecida como Hb H, que são as globinas β livres (que estão em excesso), que se juntam formando tetrâmeros de globinas β (β_4), pois sua síntese continua normalmente, diferente da globina α que está alterada. Esses tetrâmeros apresentam instabilidade que resulta na precipitação dessa hemoglobina sobre a membrana do eritrócito, diminuindo consequentemente a sobrevivência das hemácias. Já no período fetal e alguns meses após o nascimento, com a síntese deficiente das cadeias globínicas α há um excesso das cadeias γ , resultando em γ_4 , conhecida por Hb Bart's (DIAS-PENNA *et al*, 2010; OLIVEIRA *et al*, 2006).

As manifestações clínicas da talassemia alfa são bastante diversificadas dependendo do número de genes alfa afetados. Existem quatro genes alfa ativos nos indivíduos normais, dois em cada um dos cromossomos 16, representados por dois haplótipos $\alpha\alpha$ ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$). Assim, talassemias alfa são classificadas em: portador silencioso ou talassemia alfa mínima, que resulta da deleção de um dos genes alfa ($-\alpha/\alpha\alpha$); traço α talassêmico ou talassemia alfa

menor, que resulta da deleção de dois genes α no mesmo cromossomo (- α/α) ou em cromossomos diferentes (- $\alpha/- \alpha$); doença de Hb H ou talassemia alfa intermediária, onde três genes são deletados (- $\alpha/- \alpha$) e hidropsia fetal, que resulta da deleção dos quatro genes α (- $\alpha/- \alpha$). Porém, essas deleções podem atingir apenas parte do gene alfa, diminuindo a síntese de globina alfa, sendo assim, representado por $\alpha +$, já quando a deleção atinge integralmente o gene alfa, bloqueando totalmente a síntese de globina alfa, é representado por $\alpha 0$ (DIAS-PENNA *et al*, 2010).

(1) Portador silencioso (- $\alpha/\alpha \alpha$) – são portadores assintomáticos e não manifestam a doença, mesmo carregando em seu patrimônio genético o gene da talassemia, são heterozigotos, tendo três genes ativos, podendo apresentar ligeira hipocromia na vida adulta e o volume corpuscular médio (VCM) pode se apresentar discretamente microcítico (VCM <80), mas geralmente o sangue periférico é normal;

(2) Portador traço α -talassêmico (- $\alpha/\alpha \alpha$) – é considerado o portador sintomático não doente, são observadas discretas manifestações clínicas, tais como, fraqueza, cansaço, dores nas pernas e palidez, devido o gene da talassemia produzir algumas alterações hematológicas, são heterozigotos, tendo dois genes ativos e podem apresentar hipocromia e microcitose (HCM e VCM diminuídos) e discreto grau de anemia;

(3) Doença da Hb H (- $\alpha/- \alpha$) – considerado o portador sintomático doente, caracterizam-se pelo fato dos genes da talassemia estarem parcial (só 1 gene funcionando) ou totalmente afetados, produzindo alterações clínicas e hematológicas como, anemia hemolítica crônica de variada gravidade, esplenomegalia, alterações ósseas, microcitose e hipocromia, poiquilocitose e corpos de Heinz;

(4) Hidropsia fetal por Hb Bart's (- $\alpha/- \alpha$) – é a forma mais grave das síndromes talassêmicas, pois é uma forma letal, mas é uma situação esporádica no Brasil, sendo mais comum no extremo asiático. A deficiência dos quatro genes α (- $\alpha/- \alpha$) é o estado de homozigose completa, ocasionando a hidropsia fetal, que pode causar a morte intrauterina ou logo após o nascimento por anoxia grave. As crianças recém-nascidas apresentam anemia muito grave, com hemoglobina inferior a 7 g/dL, eritroblastose fetal, edema, grande aumento do baço e do fígado e morte com poucas horas após o nascimento (NAOUM 2012; OLIVEIRA *et al*, 2006).

No Brasil, segundo Oliveira *et al*, as duas primeiras são as mais frequentes, sendo que a frequência dos Portadores silenciosos varia de 10 a 15%, enquanto a de Traço α -talassêmico está próxima de 4 % entre os brancos e 10% entre os negros.

1.3.1.3.2 Talassemia beta (β)

As talassemias beta são bem mais heterogêneas que as talassemias alfa. Caracterizam-se por uma alteração quantitativa da síntese de globinas beta cuja consequência se resume na diminuição total da produção de cadeias beta ou mais conhecida como, talassemia beta zero (talassemia β^0) ou na diminuição parcial da produção de cadeias beta, mais conhecida como talassemia beta mais (talassemia β^+). Consequentemente as globinas alfa, que são sintetizadas normalmente, acumulam-se nos eritrócitos durante a eritropoiese, causando agregação e precipitação. Os precipitados formados em quantidades variáveis, danificam a membrana e destroem prematuramente essas células provocando a anemia (NAOUM, 2012).

Assim como as globinas delta e gama, a beta também está situada no cromossomo 11, podendo desenvolver diferentes formas clínicas de acordo com a quantidade de alelos prejudicados:

(1) Talassemia β maior ($\beta^0\beta^0$ e $\beta^0\beta^+$) – é o resultado do estado homocigoto tanto do tipo β^+ quanto do tipo β^0 ou, em casos mais raros, de duplo componente heterocigoto β^+/β^0 . A ausência ou deficiência acentuada na produção de cadeias beta causa anemia grave (Hb abaixo de 6,5g/dL), esplenomegalia, atraso no crescimento, redução de massa muscular e alterações características crânio faciais. Caracteriza-se pelo aumento de Hb Fetal, com concentrações que variam de 20 a 90%, a Hb A₂ pode estar normal ou elevada e a Hb A aparece somente nos casos de deficiência parcial da síntese de cadeias beta. Os portadores desta doença necessitam de um tratamento contínuo que consiste em realizar transfusões sanguíneas regulares, que mantêm o nível de hemoglobina adequado e diminui a atividade da medula óssea, e uso de quelantes do ferro, que auxiliam a eliminação do excesso desse metal no organismo;

(2) Talassemia β intermediária ($\beta^0\beta^+$ e $\beta^+\beta^+$) – os portadores apresentam quadro clínico mais ameno do que o da talassemia beta maior, os casos são sintomáticos, mas mantêm os níveis de Hb de 7 a 11g/dL e não dependem de transfusões sanguíneas. Este tipo de talassemia pode decorrer da interação das talassemias alfa e beta, com redução concomitante e significativa de ambas as cadeias de globinas, o que 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 forma mais prevalente de talassemia beta intermediária se deve a lesões do tipo β^+ ($\beta^+\beta^+$), cujo diagnóstico laboratorial é feito somente

por biologia molecular. A talassemia beta intermediária pode decorrer também de manifestações da talassemia beta com alguns tipos de hemoglobinas variantes, particularmente a Hb E, Hb S e HbC;

(3) Talassemia β menor ($\beta_0\beta$ e $\beta+\beta$) – os portadores desse tipo de alteração hereditária apresentam anemia microcítica e hipocrômica com presença de muitos esquisócitos, dacriócitos e pontilhados basófilos, Hb A₂ aumentada (3,5 a 6%) e Hb Fetal normal ou pouco elevada, chegando a valores máximos de 5%. Muitas vezes, esses pacientes são tratados inadequadamente, como se apresentassem anemia por deficiência de ferro, mas isso se deve ao mal diagnóstico da doença, por não realizar o exame de eletroforese de hemoglobinas (NAOUM, 1999; NAOUM, 2012).

1.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

A solicitação por parte do médico de um exame específico para confirmar a suspeita clínica de determinada hemoglobinopatia, por exemplo, doença falciforme, geralmente se faz apenas pelo pedido da análise de eletroforese de hemoglobinas. Porém, nem sempre a eletroforese de hemoglobinas oferece resultados satisfatórios, pois há várias situações que impedem conclusões seguras, por essa razão, é fundamental que sejam fornecidas pelo médico duas informações básicas:

- resumo clínico do paciente, inclusive com relato referente a tratamentos usados (ex: ferroterapia sem sucesso na correção da anemia);
- resultado(s) de hemograma(s) do paciente.

Com essas informações é possível estabelecer um planejamento de análise laboratorial que permitirá ao profissional de laboratório concluir com segurança o laudo de suas análises. Para o diagnóstico das hemoglobinopatias é necessário realizar algumas análises seletivas, como, hemograma, morfologia eritrocitária e eletroforese de hemoglobina em pH alcalino. Deve-se realizar algumas análises auxiliares também, para ajudar diagnosticar as hemoglobinopatias, tais como, teste de resistência osmótica em NaCl 0,36%, teste de falcização, pesquisa de corpos de Heinz e agregados de Hb H, que serão descritos abaixo (NAOUM, 2012).

1.4.1 Hemograma

É o exame laboratorial de rotina para avaliação quantitativa e qualitativa dos elementos figurados do sangue, ele é coadjuvante indispensável das consultas médicas, pois pode sofrer alterações de significação diagnóstica não apenas nas doenças hematológicas, mas também em doenças das mais variadas patogêneses (FAILACE, 2003).

Geralmente a primeira parte do hemograma é a análise da série vermelha (Eritrograma), onde são avaliados dados importantes, como o número de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição dos eritrócitos (ADE) ou red cell distribution width (RDW) (FAILACE, 2003).

É um exame importante, pois auxilia a identificação de talassemia beta menor, alfa menor, interação entre talassemias alfa e beta com Hb S ou com Hb C, principalmente (NAOUM, 2012).

A segunda parte do hemograma é a análise da série branca (Leucograma), onde a avaliação do número de leucócitos é realizada, e além disso, é feita a diferenciação celular (linfócitos, monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos) (FAILACE, 2003).

1.4.2 Morfologia eritrocitária

É uma análise que fornece “pistas” de talassemias, doença falciforme e até Hb instáveis. O esfregaço pode ser corado ou não, porém, o corado é melhor obviamente, pois mostra a intensidade de hipocromia, de policromasia, de inclusões eritrocitárias, presença de eritroblastos, entre outros. As figuras 2 e 3 mostram células características de talassemia beta (NAOUM, 2012).

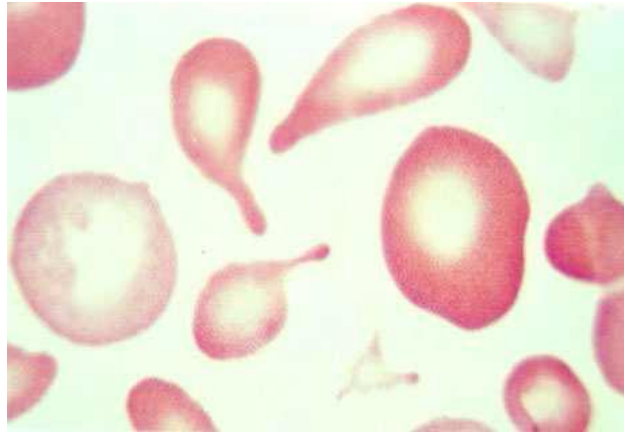


Figura 2: Esquisócitos e dacriócitos na talassemia beta menor. O macrócito da esquerda, com discreta policromasia é provavelmente um reticulócito circulante; o macrócito da direita se deve à deficiência de folatos – situação comum em portadores de talassemia beta menor e outras anemias hemolíticas crônicas.

Fonte: NAOUM, 2012.

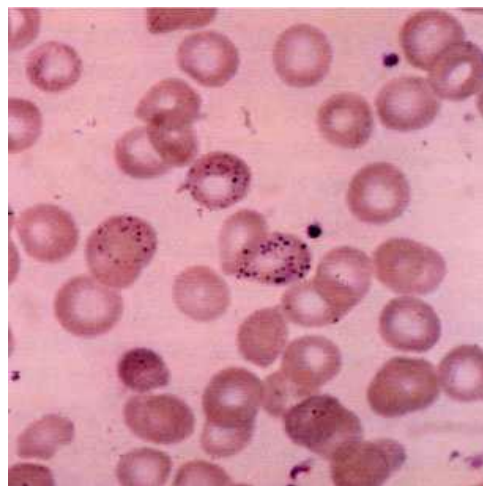


Figura 3: Vê-se no centro, três eritrócitos com pontilhados basófilos em paciente com talassemia beta menor.

Fonte: NAOUM, 2012.

1.4.3 Eletroforese de hemoglobina em pH alcalino

Em pH 8,0-9,0 a hemoglobina é uma proteína carregada negativamente, migrando em direção ao pólo positivo. Esse método identifica as hemoglobinas normais e grande parte das variantes. As diferentes mobilidades verificadas entre as diversas hemoglobinas com defeitos estruturais se devem às alterações de cargas elétricas, causadas por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoelétricos (pI). As hemoglobinas variantes, oriundas de

mutações que não envolvem alterações de cargas elétricas, geralmente apresentam mobilidade eletroforética semelhante à da Hb A, nesse grupo situa-se a maioria das hemoglobinas instáveis (NAOUM,1999).

A eletroforese de hemoglobina qualitativa determina a existência ou não de uma hemoglobina anormal, além das hemoglobinas normais. Enquanto que o método quantitativo determina as porcentagens das hemoglobinas normais e anormais, determinando assim a intensidade da alteração e é usado especialmente para dosar a Hb A₂, quando a suspeita é de talassemia beta menor, pois em 95% destes casos a Hb A₂ está elevada com concentrações variáveis entre 4,1 a 7,5% (Hb A₂ normal: 2 a 4%) (NAOUM, 1999).

O traço ou anemia falciforme podem ser confirmados através da eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, como mostra a figura abaixo.

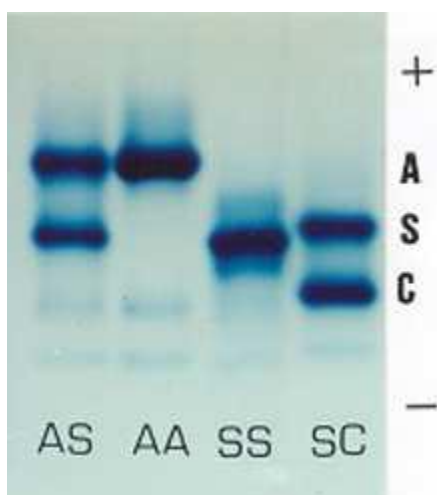


Figura 4: Resultado de uma eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, pH 8.6, mostrando da esquerda para a direita os genótipos Hb AS (heterozigoto de Hb S); Hb AA (padrão normal); Hb SS (homozigose de Hb S) e Hb SC (dupla heterozigose de Hb S e Hb C).
Fonte: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/>

A talassemia beta menor também pode ser confirmada através da eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose, observando a Hb A₂ aumentada. É sempre importante aplicar amostra padrão (Hb AA) para fins comparativos (NAOUM, 2012).

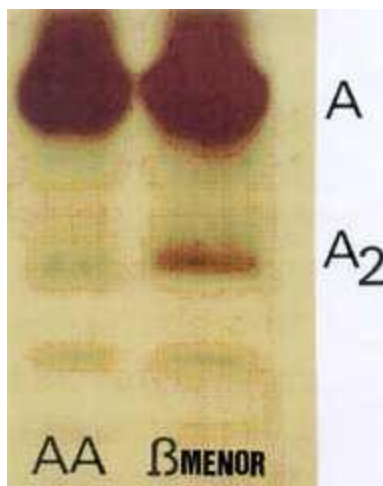


Figura 5: Hb A₂ aumentada em portadores de talassemia beta menor, visualizada por meio de eletroforese alcalina (pH 8,5) em acetato de celulose em comparação com Hb AA e Hb A₂ normal.

Fonte: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/>

A eletroforese de hemoglobina em pH alcalino realizada em acetato de celulose permite também a visualização de Hb H que está presente em pessoas portadoras de talassemia alfa, mas para isso, é necessário usar amostra de sangue hemolisado com saponina a 1%, avaliar visualmente a presença da fração de Hb H entre 5 a 10 minutos do início da corrida eletroforética, pois com o passar do tempo o processo termodinâmico da eletroforese desnatura a Hb H. A figura abaixo destaca a presença da Hb H na amostra número 3, observe que a Hb A₂ está diminuída no portador de Hb H, esse fato é comum na talassemia alfa (NAOUM, 2012).

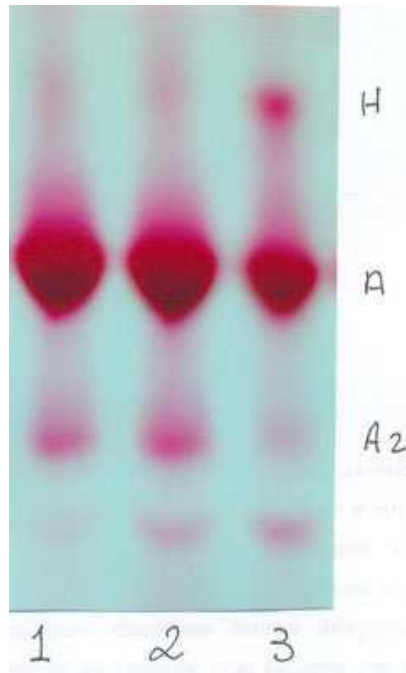


Figura 6: Eletroforese alcalina em acetato de celulose. As amostras 1 e 2 são normais para hemoglobinas (Hb AA) e a de nº 3 pertence a uma pessoa com talassemia alfa (Hb AH).

Fonte: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/>

1.4.4 Teste de resistência osmótica em NaCl 0,36%

Esse teste é seletivo para identificar possíveis portadores de talassemia beta menor. Os eritrócitos esquisócitos desses pacientes não hemolisam nessa solução, tornando-a turva, como mostra a figura abaixo. É importante destacar que esse teste não tem valor como diagnóstico laboratorial e sua função é apenas auxiliar. A positividade também ocorre nos genótipos AC, SS, SC e SF, além de casos com anemia ferropriva intensa (NAOUM, 2012).

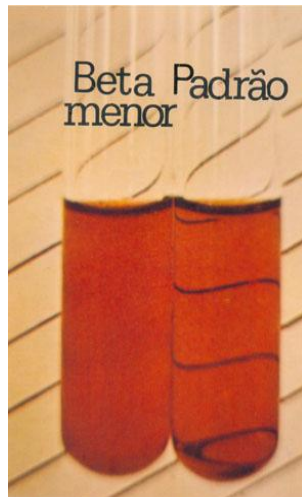


Figura 7: Teste de resistência osmótica em solução de NaCl 0,36%. Pessoas com talassemia beta menor têm eritrócitos mais resistentes quando comparados com o padrão (Hb AA).

Fonte: NAOUM, 2012

1.4.5 Eletroforese em agarose ácida

Este exame é específico para diferenciar alguns tipos de hemoglobinas variantes mais lentas que a Hb A, por exemplo, diferencia a Hb S da Hb D e a Hb C da Hb E, pois Hb S e Hb D migram na mesma posição em eletroforese alcalina, o mesmo ocorre em relação às Hb C e Hb E. Com a eletroforese em agarose ácida as Hb S e Hb C são mais lentas a Hb A, enquanto as Hb D e Hb E migram na mesma posição da Hb A, conforme mostra a Figura 8. Por meio deste exame, também, é possível observar a concentração da Hb Fetal aumentada no paciente 2 (NAOUM, 2012).

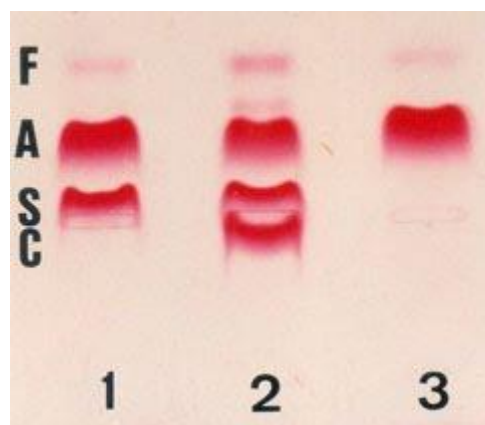


Figura 8: Eletroforese em agarose ácida: (1) Hb AS; (2) Hb FASC e (3) Hb AA.

Fonte: NAOUM, 2012.

1.4.6 Pesquisa de corpos de Heinz, pesquisa intraeritrocitária de Hb H e contagem de reticulócitos

A técnica utilizada para a realização destes três testes é a mesma, pois só são visíveis após coloração vital, por meio do uso de azul de cresil brilhante ou o novo azul de metileno, porém essas inclusões são facilmente diferenciadas, como mostra a Figura 9 (NAOUM, 2012).

Os corpos de Heinz são partículas de polipeptídeos oriundos da desnaturação de hemoglobinas que se fixam junto à membrana dos eritrócitos. São encontrados em pacientes com hemoglobinas instáveis, apresentando-se grandes e grosseiros. Após coloração, esses corpúsculos apresentam-se dispostos homoganeamente no interior dos eritrócitos, como pequenos pontos azulados (NAOUM, 1999).

Os precipitados de Hb H no interior dos eritrócitos se devem às globinas beta “livres” que se juntam, devido à diminuição das globinas alfa, isso ocorre na talassemia alfa. Uma das formas de identificar a talassemia alfa é pesquisar a presença de Hb H nos eritrócitos (NAOUM, 2012).

Já a contagem de reticulócitos é de grande utilidade para compor o diagnóstico de anemias hemolíticas, entre as quais se destacam a doença falciforme, talassemia maior e intermédia e Hb instáveis. Esta técnica avalia o grau de eritropoiese em pacientes anêmicos e o grau de destruição eritrocitária que ocorre no processo hemolítico em pacientes com malária, anemia hemolítica autoimune e com Hb instáveis (NAOUM, 2012).

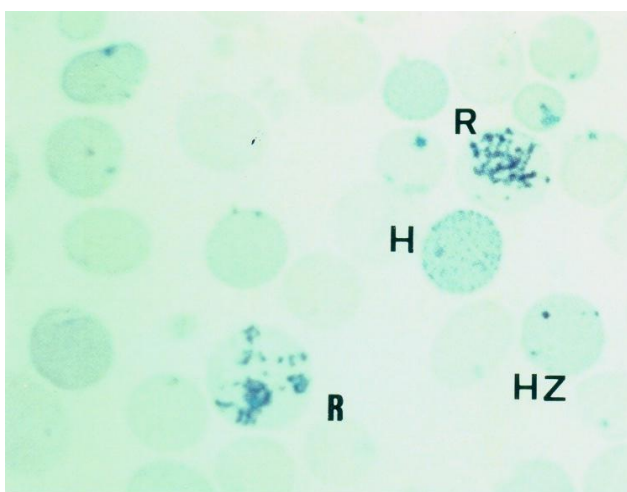


Figura 9: (H) eritrócito com Hb H; (R) reticulócitos; (HZ) corpos de Heinz.
Fonte: <http://www.talassemias.com.br/>

1.4.7 Teste de falcização

Sob baixa tensão de oxigênio, os eritrócitos contendo hemoglobina S tomam a forma de foice ou de meia lua. O metabissulfito de sódio reduz a tensão de oxigênio. Assim, quando uma solução de metabissulfito é adicionada ao sangue total, e esta mistura é lacrada entre lâmina e lamínula por meio de esmalte, os eritrócitos contendo Hb S se deformam (NAOUM,1999).

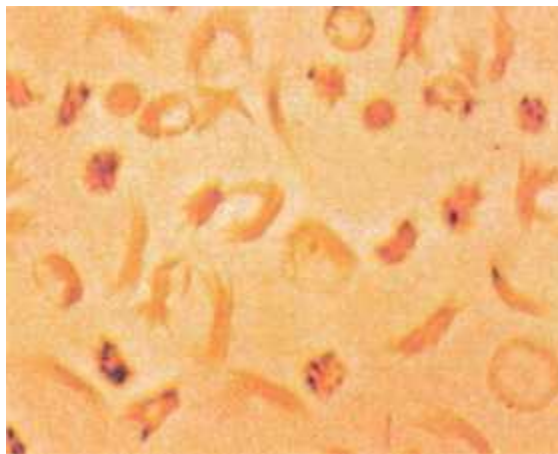


Figura 10: Teste de falcização positivo em portador de traço falciforme (Hb AS) após cinco horas de incubação do sangue com metabissulfito de sódio a 1%.

Fonte: <http://www.hemoglobinopatias.com.br/>

2 – OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura sobre hemoglobinopatias e talassemias.

3 – CONCLUSÃO

Após a revisão da literatura concluiu-se que a anemia falciforme e a talassemia são as duas hemoglobinopatias mais recorrentes no Brasil.

REFERÊNCIAS

ANGULO, Ivan L. e PICADO, Sandra B. R.. **Hemoglobina C em homozigose e interação com talassemia beta**. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* [online]. 2009, vol.31, n.6, pp. 408-412. Epub 27-Nov-2009. ISSN 1516-8484.

CASTRO, Frank S. *et al.* **Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico**. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* [online]. 2008, vol.30, n.1, pp. 24-28. ISSN 1516-8484.

DIAS-PENNA, Karlla Greick Batista et al. **Dificuldades na identificação laboratorial da talassemia alfa**. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* [online]. 2010, vol.46, n.2, pp. 91-97. ISSN 1676-2444.

FAILACE, Renato F. **Hemograma - Manual de Interpretação**. 4ª edição. Porto Alegre: Editora Artmed, 2003.

GUYTON, A.C. & HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. p. 364 e 365.

LISOT, Cristina Lucia Alberti e SILLA, Lúcia Mariano da Rocha. **Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana**. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2004, vol.20, n.6, pp. 1595-1601. ISSN 0102-311X.

NAOUM, P. C. **Eletroforese. Técnicas e Diagnósticos**. 2ª edição. São Paulo: Santos Editora. 1999.

NAOUM, P. C. **Eletroforeses: Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas, DNA**. São Paulo: Santos Editora. 2012.

OLIVEIRA, Gislane L. V.; MENDIBURU, Carlos F. e BONINI-DOMINGOS, Claudia R.. **Avaliação do perfil hematológico de portadores de talassemia alfa provenientes das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil**. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* [online]. 2006, vol.28, n.2, pp. 105-109. ISSN 1516-8484.

SILVEIRA, Zama Messala Luna; SILVA, Elisângela Nascimento da; TORREÃO, Neussana Kellen de Araújo Medeiros; BEZERRA, Isabelle Medeiros & MEDEIROS, Tereza Maria Dantas. **Variantes estruturais da hemoglobina: estudo sobre prevalência em militares**. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 2008, vol.40, n.2, pp.155-157.

SIMÕES, Belinda P. *et al.* **Consenso brasileiro em transplante de células-tronco hematopoéticas: comitê de hemoglobinopatias**. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* [online]. 2010, vol.32, suppl.1, pp. 46-53. Epub 02-Abr-2010. ISSN 1516-8484.