

Incidência de talassemia alfa em pacientes com índices eritrocitários abaixo da normalidade na cidade de Aracruz-es.

Thulio Ramon Gandra de Almeida

Resumo

A talassemia alfa é uma anemia hereditária resultante da síntese deficiente de cadeias alfa, provocando um excesso relativo de cadeias beta, que vão formar tetrâmeros identificados como hemoglobina H (Hb H) no indivíduo adulto. Para direcionar o diagnóstico laboratorial desta anemia, a análise dos índices eritrocitários, a eletroforese em acetato de celulose em pH neutro e a pesquisa de corpos de inclusão de Hb H são essenciais. O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de talassemia alfa em indivíduos com índices eritrocitários abaixo da normalidade na cidade de Aracruz no estado do Espírito Santo. Foram analisadas 860 amostras de sangue periférico após consentimento informado. Em 176 amostras (20,5%), foram evidenciadas alterações dos índices eritrocitários. Para o diagnóstico de talassemia alfa foram utilizados testes de triagem e complementares para talassemias, como eletroforese em pH neutro e pesquisa de corpos de inclusão de Hb H com coloração de azul cresil brilhante. Das 176 amostras com alterações nos índices eritrocitários, 14 foram compatíveis com fenótipos alfa talassemicos.

Palavras-chave: Anemias; talassemia alfa; índices eritrocitários.

Abstract

Alpha thalassemia is a hereditary anemia resulting from defective synthesis of alpha chains, causing a relative excess of beta chains, which form tetramers identified as hemoglobin H (Hb H) in adults. To direct the laboratory diagnosis of anemia, red blood cell indices analysis, electrophoresis on cellulose acetate at neutral pH and the detection of inclusion bodies of Hb H are essential. The aim of this study was evaluate the incidence of alpha thalassemia in individuals with below normal erythrocyte indices in the city of Aracruz in the state of Espírito Santo. 860 peripheral blood samples were analyzed after informed consent. In 176 samples (20,5%), was observed the alteration of erythrocyte indices. To diagnose alpha thalassemia, screening for thalassemia and additional tests, such as electrophoresis at neutral pH and research bodies of Hb H inclusion staining with cresyl brilliant blue were used. Of the 176 samples with alterations in erythrocyte indices, 14 were consistent with alpha thalassemia phenotypes.

Keywords: Anemia; thalassemia; erythrocyte indices.

Introdução

As talassemias constituem, dentro das anemias hereditárias, um grupo heterogêneo e numeroso e podem ser consideradas como as mais comuns dentre as alterações genéticas monogênicas na população mundial. São caracterizadas por uma alteração na síntese de uma ou mais cadeias polipeptídicas da hemoglobina (Hb), gerando um desequilíbrio entre essas subunidades, dificultando o processo de eritropoese e causando hemoglobinização deficiente dos eritroblastos.¹

Em algumas regiões do país, a talassemia alfa alcança até 20% da população. A alta frequência e diversidade de portadores na população brasileira é devido às diferenças na composição étnica das diferentes regiões e à grande miscigenação ocorrida ao longo da história do Brasil.^{1,2}

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.³ Esse excesso de cadeias despareadas pode se ligar para formar tetrâmeros de caráter instável como o tetrâmero β_4 , conhecido por Hb H no indivíduo adulto, e γ_4 , conhecido por Hb Bart's, encontrado no período fetal e alguns meses após o nascimento.^{4,5}

Estas hemoglobinas 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.⁴ São responsáveis pelas alterações fisiológicas e morfológicas dos eritrócitos, ocasionando microcitose e hipocromia em diferentes graus.⁶ A Hb H pode ser oxidada e formar precipitados intra-eritrocitários que, quando

presentes nos eritroblastos, causam destruição intramedular dos precursores eritróides e consequente eritropoese ineficiente. Com o tempo, estes precipitados fixam-se na membrana do eritrócito, provocando danos e sua retirada prematura da corrente circulatória pelo sistema tecidual macrofágico, diminuindo assim o tempo de vida útil.^{1,7,8,9}

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.¹⁰

O indivíduo normal possui quatro genes alfa, dois em cada um dos cromossomos 16, e seu genótipo é representado por dois haplótipos ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), um proveniente do pai e outro da mãe. Os genes α_1 e α_2 são homólogos e codificam proteínas idênticas, divergindo em apenas 17%.³ Apesar dessa homologia, o gene α_2 apresenta uma expressão de duas a três vezes maior que o gene α_1 , e esse fato é determinante para o estabelecimento do perfil dos portadores, pois a alteração do primeiro gene implica maiores consequências para o quadro clínico. Assim, a caracterização da talassemia alfa está relacionada a três fatores: o número de genes afetados, o grau de decréscimo na expressão do gene e o quanto o gene afetado (α_1 ou α_2) contribui para a síntese da globina alfa.¹¹

Genotipicamente, centenas de associações podem ocorrer e determinar talassemia alfa; fenotipicamente essas interações resultam em uma das quatro amplas classificações: Portador silencioso; Traço alfa talassêmico; Doença de Hb H e Hidropsia fetal por Hb Bart's.^{5,12-13} As duas primeiras são as mais frequentes no Brasil. A frequência de portadores silenciosos em nossa população varia de 10% a 15%, enquanto a de Traço alfa talassêmico está próxima de 4% entre os brancos e 10%

entre os negros. Ambos os fenótipos apresentam marcadas variações regionais.¹¹

Para o diagnóstico desta anemia hereditária, a análise dos índices eritrocitários, a hematoscopia, incluindo a análise da morfologia eritrocitária, e a pesquisa de corpos de inclusão de Hb H e a eletroforese em pH neutro são essenciais. Secundariamente, a dosagem de Hb A₂, a contagem de reticulócitos e avaliação do suprimento de ferro auxiliam no diagnóstico diferencial de anemias de etiologia incerta.^{6,14} Os índices hematimétricos podem sofrer alterações na presença de hemoglobinopatias estruturais e são determinantes no diagnóstico diferencial das talassemias.¹³

Casuística e Métodos

Foram analisadas 860 amostras de sangue periférico de indivíduos de ambos os sexos, com idades variando de 1 a 56 anos, sem distinção de etnia, provenientes da cidade de Aracruz no estado do Espírito Santo.

As amostras foram colhidas por punção venosa e acondicionadas em tubos contendo EDTA 5%. Este estudo foi desenvolvido no período de abril de 2014 a junho de 2014.

Os índices eritrocitários foram fornecidos por aparelho Celldyn 3500 Abbott e os valores de referência utilizados para a análise foram obtidos segundo Greer *et al.*,¹⁶ sendo a contagem de glóbulos vermelhos (RBC) em milhões/mm³ dentro da faixa de 5.400.000 ± 800.000 para os homens e de 4.800.000 ± 600.000 para as mulheres; a dosagem de hemoglobina (HGB) em gramas/decilitro, variando de 16 ± 2 g/dl para homens e 14 ± 2 g/dl para mulheres; o hematócrito (HCT) em %, variando de 47 ± 5% para homens e de 42 ± 5% para mulheres; o volume corpuscular médio (VCM) em μ³, na faixa

de 87 ± 5³ para ambos os sexos; a hemoglobina corpuscular média (HCM) em picogramas, variando de 29 ± 2 pg para ambos os sexos e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em %, variando de 34 ± 2% para ambos os sexos.

Para o diagnóstico de portadores de talassemia alfa foram realizados os seguintes testes de triagem: resistência globular osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%¹⁷; Análise da morfologia eritrocitária¹; Eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino.¹⁸ Os testes complementares foram os seguintes: Eletroforese em acetato de celulose em pH neutro¹⁹; Pesquisa de corpos de inclusão de Hb H com coloração de azul cresil brilhante²⁰.

Resultados

Das 860 amostras analisadas, 176 (20,5%) evidenciaram alterações nos índices eritrocitários.

Em relação à triagem para talassemias, todas as amostras com alterações nos índices eritrocitários, foram previamente identificadas como possíveis portadores de talassemia alfa. Dentre as 176 amostras analisadas, 14 (1,6%) apresentaram a presença de Hb H em eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino, e posteriormente foram submetidas a testes complementares, que evidenciaram fenótipos compatíveis com talassemia alfa. Essa confirmação se deu após visualização e quantificação da banda de Hb H em eletroforese em pH neutro e/ou visualização de corpos de Hb H na pesquisa citológica com coloração vital.

Conclusão

A realização desse estudo confirmou a necessidade constante de investigação dos pacientes que tenham alterações eritrocitárias, com o intuito de se assegurar um correto diagnóstico com relação às talassemias.

Referências Bibliográficas

1. Bonini-Domingos CR. Hemoglobinopatias no Brasil: variabilidade genética e metodologia laboratorial. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 1993.
2. Mendes-Siqueira FA. Contribuição para o estudo das alterações moleculares e interferentes na expressão fenotípica das hemoglobinopatias a partir de um programa de diagnóstico neonatal. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. São José do Rio Preto, 2004.
3. Higgs DR. Molecular mechanisms of α -thalassemia. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, eds. Disorders of Hemoglobin; Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge. Inglaterra: Cambridge University Press, 2001.
4. Chui DHK, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. Blood 2003.
5. Higgs DR, *et al.* A review of the molecular genetics of the human alpha globin gene cluster. Blood 1989.
6. Bonini-Domingos CR, Mendiburu CF. Talassemia alfa no Brasil. Por que diagnosticar? Triagem 2002.
7. Bunyaratvej A, Fucharoen S, Wasi P. Comparison of erythrocyte antioxidative enzyme activities between two types of haemoglobin H disease. J Clin Pathol 1986.
8. Liebhaber AS. Alpha thalassemia. Invited review. Hemoglobin 1989.
9. Liebhaber SA, Schrier SL. Pathophysiology of α -thalassemia. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, eds. Disorders of Hemoglobin; Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge. Inglaterra: Cambridge University Press, 2001.
10. Williams WJ, Beutker J, Sirleaf V, Rundles RW. Hematologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976.
11. Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997.
12. Kazazian Jr HH. The thalassemia syndromes: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. Sem in Hematol 1990.
13. Chui DHK, Luo H-Y, Clarke BJ. Potential application of a new screening test for alpha thalassemia 1 carriers. Hemoglobin 1988.
14. Finch CA, Hillman RS. Manual da Série Vermelha. São Paulo: Santos. 2001.
15. Chan LC, *et al.* Should we screen for globin gene mutations in blood samples with mean corpuscular volume (MCV) greater than 80 fl in areas with a high prevalence of thalassaemia? J Clin Pathol 2001.
16. Greer JP, *et al.* Wintrobe's Clinical Hematology. 11th ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia. 2003.
17. Silvestroni E, Bianco I. Screening for microcytemia in Italy: analysis of data collected in the past 30 years. Am J Hum Genet 1975.
18. Marengo-Rowe AJ. Rapid electrophoresis and quantization of haemoglobin on cellulose acetate. J Clin Pathol 1965.
19. Dacie JV, Lewis SM. Practical Haematology. 6th ed. London: Churchill. 1985.
20. Papayannopoulos R, Stamatoyannopoulos G. Stains for inclusions bodies. In: "Standardization of laboratory reagents and methods for detection of haemoglobinopathies". Atlanta: Hew publications, 1974.