Hemoglobinopatias: investigação em sangue periférico de acadêmicos de uma universidade de Alfenas - MG

Hemoglobinopathies: peripheral blood analysis from academics of a university in Alfenas - MG

Gabriela da Silva Batista¹, Nayhan Andrade dos Santos¹, Valéria Bastos Marquetti¹, Wesley Blanco Mota¹, Alessandra dos Santos Danziger Silvério²

Batista GS, Santos NA, Marquetti VB, Mota WB, Silvério ASD. Hemoglobinopatias: investigação em sangue periférico de acadêmicos de uma universidade de Alfenas-MG / *Hemoglobinopathies: peripheral blood analysis from academics of a university in Alfenas-MG*. Rev Med (São Paulo). 2020 maio-jun.;99(3):246-50.

RESUMO: As hemoglobinas (Hb) humanas são tetrâmeros globulares formados pela combinação de duas cadeias polipeptídicas do “tipo α ” com duas cadeias do “tipo β ”, sendo Hb A1, Hb A2 e Hb Fetal os três principais tipos de hemoglobinas no adulto normal. As hemoglobinopatias são doenças causadas por mutações que afetam os genes de globinas, que resultam em alterações estruturais e/ou funcionais das moléculas de hemoglobina. Dentre as hemoglobinas variantes, as mais frequentes na população brasileira são a hemoglobina S e C. O objetivo é detectar hemoglobinas anormais em uma população acadêmica de Alfenas-MG. Para a realização do estudo, foram coletadas 336 amostras de sangue periférico, hemolisadas com saponina e clorofórmio. Em seguida, foi realizada a eletroforese de hemoglobina em pH alcalino para qualificação de hemoglobinas normais e grande parte das anormais. A confirmação da hemoglobina S foi feita pela prova de falcização. Do total de amostras analisadas, 97,62% (n=328) apresentam perfil eletroforético compatível com hemoglobinas AA e 2,38% (n=8) compatível com hemoglobinas AS (traço falciforme). No Brasil, a prevalência média de Hb AS é próxima de 2% na população total. Portanto, os resultados encontrados reafirmam a média encontrada na população brasileira de pessoas com o traço falciforme.

Descritores: Hemoglobinopatias; Hemoglobina S; Anemia Falciforme.

ABSTRACT: The human hemoglobins (Hb) are globular tetramers formed by combination of two polypeptide chains of “type α ” with two chains of “type β ”, being Hb A1, Hb A2 and Fetal Hb the main types of hemoglobins in normal adult. The hemoglobinopathies are diseases with mutations that affect the genes of globins, which result on structural changes and/or hemoglobin molecular function changes. Among the hemoglobin varies, the most frequent in Brazilian population are the hemoglobin S and C. The goal is to detect abnormal hemoglobins at an academic population of Alfenas-MG. To carry out we collected 336 samples of peripheral blood. Which were hemolyzed with saponin and chloroform. Next, it was accomplished the electrophoresis of hemoglobin in alkali pH for qualification of normal and most of the abnormal hemoglobins. The confirmation of hemoglobin S was made by sickle cell test. Of the total of samples analyzed, 97.62% (n=328) were compatible with hemoglobins AA, and 2.38% (n=8) were compatible with hemoglobins AS (sickle cell trait). In Brazil, the average prevalence of Hb AS is close to 2% in the total population. Therefore, the results found in the present study confirm those described in the Brazilian population.

Keywords: Hemoglobinopathies; Hemoglobin S; Sickle Cell Anemia.

Este trabalho foi apresentado: XIV Seminário de Iniciação Científica na Universidade José do Rosário Vellano-Alfenas, out. 2015; VIII Congresso de Biomedicina, V Jornada de Análises Clínicas, nov. 2015; I Mostra de Trabalhos Científicos no Curso de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano-Alfenas, jun. 2016.

1. Acadêmicos do curso de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano-Alfenas. ORCID: Batista GS -<https://orcid.org/0000-0003-3988-0343>; Santos NA - <https://orcid.org/0000-0002-5332-395X>; Marquetti VB - <https://orcid.org/0000-0003-4736-8024>; Mota WB - <https://orcid.org/0000-0001-6868-7441>. E-mail: med.gabrielasb@gmail.com; vahmarquetti11@gmail.com; nayhan_fsa@hotmail.com; motawesley@bol.com.br.

2. Doutora e Professora do curso de Medicina da Universidade José do Rosário Vellano-Alfenas. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9513-1331>. E-mail: alessandra.danziger@unifenas.br.

Endereço para correspondência: Avenida Herculano Cesário, 245, Jardim do Sol, Cassia, MG. CEP: 37980000.

INTRODUÇÃO

A principal hemoglobina em um adulto saudável é a HbA ($\alpha_2\beta_2$), com pequenas quantidades de HbA2 ($\alpha_2\delta_2$, <2.5% -3.0%) e HbF ($\alpha_2\gamma_2$, 1% -2%)¹.

As hemoglobinopatias são caracterizadas por síntese anormal das cadeias polipeptídicas de globina que constituem os diferentes tipos de hemoglobinas nos glóbulos vermelhos. Existem dois defeitos principais, nomeadamente a síntese reduzida da (s) cadeia (s) de globina afetada (s) (talassemias) e variações estruturais da hemoglobina (por exemplo, síndromes falciformes)¹.

Dentre as hemoglobinas variantes anormais, as mais frequentes na população brasileira são a hemoglobina S (HbS) e C (HbC), ambas de origem africana, mostrando a intensa participação do negro na composição populacional brasileira².

Por sua diversidade genética e importância clínica, as hemoglobinopatias são consideradas problemas de saúde pública em muitos países, inclusive no Brasil. Estão inseridas nos programas de triagem neonatal visando, através do diagnóstico precoce, a melhoria na qualidade de vida dos doentes com a implementação de medidas profiláticas e de condutas terapêuticas adequadas³.

A doença falciforme é definida como uma hemoglobinopatia de origem genética que se caracteriza pela predominância da hemoglobina S (HbS) nas hemácias. Quando desoxigenada, sofre alterações em suas propriedades físico-químicas, resultando na mudança da configuração da hemácia para o formato de “foice”^{4,5}.

A doença falciforme é causada por uma troca entre os aminoácidos (A – T) no gene da β - globina adulto, o que leva a uma substituição de uma valina por um ácido glutâmico na posição 6 da cadeia β -globina. A dimerização destas cadeias β -globina mutantes com α -globina resulta na formação de HbS ($\alpha_2\beta_2S$). Em pacientes homozigotos para HbS, a forma mais grave da doença falciforme, as cadeias mutantes β -globina polimerizam-se em glóbulos vermelhos desoxigenados, fazendo com que eles se deformem, de uma morfologia bicôncava para gancho /forma de foice. Ciclos repetitivos de falcização fazem com que as moléculas de HbS mudem de oxigenadas a estados desoxigenados, causando fragilidade das hemácias e promovendo vaso-oclusão, crises dolorosas, anemia crônica, síndrome torácica aguda, insuficiência de órgãos, acidente vascular cerebral e, eventualmente, morte⁶.

A anemia falciforme resultante da presença da hemoglobina S é responsável por muitas mortes entre crianças e adultos, variando entre as regiões geográficas no Brasil. Isto depende muito da qualidade do tratamento dispensado às crianças. A doença falciforme mata mais crianças entre 1 a 5 anos, diminuindo entre os 5 anos até a adolescência e aumenta após os vinte anos de idade. As crianças negras e pardas morrem por doenças falciformes em maior quantidade do que crianças brancas. O Ministério

da saúde estima que para cada 100 pessoas que morrem, 14 não apresentam *causa mortis* definida. Os dados do Ministério da Saúde revelam que há dificuldade de acesso aos serviços de saúde e insuficiência no diagnóstico preventivo das doenças genéticas, contribuindo para que a incidência ainda seja alta no país⁷.

Estudos demonstram que nos países onde a triagem neonatal para hemoglobinopatias foi instituída oferecendo acompanhamento de pacientes em centros especializados, a mortalidade geral nestas crianças foi reduzida de 80% para 1,8%⁸.

Dessa forma, este estudo buscou caracterizar o perfil hemoglobínico de uma população estudantil de Alfenas - MG e, mais especificamente, detectar a ocorrência de hemoglobinas anormais, para orientar os portadores heterozigotos para hemoglobinas variantes a necessidade de procurar um aconselhamento genético, caso deseje ter um filho, pois há possibilidade de gerar um filho homozigoto, com doença grave.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com a população de 336 acadêmicos de ambos os sexos, independente da raça e condição socioeconômica, com faixa etária entre 21 a 45 anos, mediante orientações quanto à sua participação na pesquisa e assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Procedeu-se a coleta da amostra sanguínea (3mL), realizada mediante punção venosa por profissional habilitado, utilizando-se de tubos siliconizados contendo o anticoagulante EDTA na proporção de 1 mg/mL de sangue. As amostras obtidas foram processadas para a obtenção do hemolisado em saponina.

Em seguida, as amostras foram submetidas às análises laboratoriais por eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose em tampão alcalino, pH 8,6. A presença da hemoglobina S foi confirmada pela prova de falcização^{9,10,11}.

Estudo aprovado pelo Comitê de Ética em Seres Humanos da UNIFENAS-Alfenas com doc. Número: 2.746.378.

RESULTADOS

Do total das 336 amostras analisadas no presente estudo, 97,61% (n = 328) apresentam perfil eletroforético compatível com tipos e quantidades de hemoglobinas consideradas normais denominado de AA; 2,38% (n = 8) apresentam perfil eletroforético compatível com hemoglobinas AS. Esses indivíduos são portadores do traço falciforme e, para confirmação do diagnóstico AS, realizou-se o teste de falcização (Figura 1), tornando possível a visualização de drepanócitos, coerentes com o resultado preliminar da eletroforese de hemoglobina, confirmando,

em seus respectivos casos, a presença da HbS nas amostras em questão (Figura 2).

Fonte: Laboratório de Hematologia, Unifenas, Alfenas.

Figura 1 - Teste de Falcização positivo utilizando metabissulfato de sódio a 5% (x400)

Fonte: Laboratório de Hematologia, UNIFENAS.

Figura 2 - Eletroforese alcalina de hemoglobinas em gel de agarose. Diferenciação da mobilidade eletroforética das hemoglobinas

DISCUSSÃO

Dentre as hemoglobinas variantes (hemoglobinas diferentes das normais), com interesse multidisciplinar, sobressaem as hemoglobinas variantes S e C. Esses dois tipos de hemoglobinas anormais apresentam alterações fisiopatológicas cujo grau de repercussão

está na dependência da constituição do genótipo dessas hemoglobinas¹².

Há uma estimativa de que, no Brasil, cerca de 7 milhões de pessoas são portadoras de alguma anomalia na hemoglobina, sendo as mais frequentes o traço falciforme e o traço para hemoglobinopatia C que, no geral, são assintomáticos. O cruzamento de portadores desses defeitos pode originar o nascimento de crianças com anemia muito grave, sendo necessário, muitas vezes, transfusões sanguíneas desde o nascimento e pelo resto da vida, levando a doenças cardíacas, renais e hepáticas¹³. Pela alta incidência dessas anormalidades na hemoglobina e pela gravidade nos casos de cruzamento desses indivíduos, este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência dessas variações na hemoglobina para uma melhor orientação dos portadores, como a possibilidade de um aconselhamento genético.

Um estudo conduzido por Santiago et al.¹⁴ em voluntários de todas as comunidades quilombolas no Brasil mostrou uma distribuição específica de variantes de Hb em todas as comunidades investigadas. Os Perfis de hemoglobinas entre as comunidades estudadas mostraram que 91,45% da população estudada apresentou hemoglobina HbAA (normal); 2,63% HbAC; 0,07% HbCC; 4,95% HbAS (traço falciforme) e 0,31% HbSS (doença falciforme). A distribuição das hemoglobinas variantes está relacionada com o processo de colonização de cada região. Devido à típica formação da população brasileira, pode-se considerar que os africanos contribuíram para o surgimento dos principais tipos de hemoglobinopatias. A distribuição de Hb variantes foi heterogênea entre os estados brasileiros, e a Bahia tem a maior incidência e prevalência de células falciformes, doença e outras variantes da Hb.

A anemia falciforme é a doença hereditária mais prevalente no Brasil chegando a acometer 0,1 a 0,3% da população (predominantemente negra), com tendência a atingir parcelas cada vez mais significativas da população brasileira, decorrente do alto grau de miscigenação aqui presente. Estudos populacionais têm demonstrado a crescente presença de hemoglobina S em indivíduos brancos¹⁵. A prevalência média de Hb AS é próxima de 2% na população total. Entretanto, considerando, apenas, pessoas da cor negra, a prevalência média gira em 5%, com grandes diferenças regionais. Por exemplo, os estados da Bahia e Rio de Janeiro possuem prevalência acima de 5%, enquanto os estados do Paraná e Santa Catarina abaixo de 2%.¹² Estimativas indicam que 5% a 6% da população carrega o gene da Hemoglobina S (HbS) e que a incidência fica em torno de 700 - 1000 novos casos por ano¹⁶. Entre pessoas de cor branca a prevalência média de Hb AS varia entre 0,5 e 1,3%, evidenciando a representativa miscigenação da população brasileira¹⁷.

Araújo¹⁸, por exemplo, concluiu que, das 1.940 amostras de sangue de cordão umbilical de recém-nascidos provenientes de três maternidades públicas da cidade de Natal, o traço falciforme (genótipo AS) foi o mais

prevalente, representando 1,5% (29 recém-nascidos), em comparação à anemia falciforme (genótipo SS) que correspondeu a 0,05% (1 recém-nascido).

Baseado nos dados do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), estima-se a existência de dois milhões de portadores do gene da Hb S no Brasil e que 25 a 50 mil pessoas tenham a forma homozigótica (Hb SS) denominada de doença falciforme¹⁹.

Cançado e Jesus²⁰ fizeram levantamentos de dados do Ministério da Saúde que os permitiram analisar quantitativamente a distribuição do gene HbS no Brasil. Pela análise da frequência do gene S em diferentes regiões do país, há uma maior concentração de indivíduos heterozigotos (AS) nas regiões nordeste e sudeste, justamente onde se teve um acentuado tráfico de escravos africanos.

Martinet al.²¹, em um estudo com 151 pacientes, demonstrou a morbimortalidade da anemia falciforme. Desses, a média de idade era 17,7 anos e 52,4% eram do sexo feminino. Houve 11 óbitos, com idade média de 33,5 anos, sendo apenas um menor de 10 anos e a causa mais frequente foi a insuficiência de múltiplos órgãos. Esse estudo mostrou uma menor expectativa de vida para o portador da doença falciforme.

Felix et al.²² em sua pesquisa, relata aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme (DF) através do estudo de 47 pacientes falcêmicos, com idade igual ou superior a 18 anos, sendo 78,7% negros, 17% pardos, e 4,3% brancos, com maior prevalência no gênero feminino (59,6%). Verificou-se, nesta pesquisa, que a doença falciforme reflete negativamente nas atividades laborais e na qualidade de vida do paciente.

Segundo o Ministério da Saúde²³, no Brasil, devido ao grande contingente da população africana desenraizada de suas origens para o trabalho escravo, a doença falciforme faz parte de um grupo de doenças e agravos relevantes que afetam a população negra. Por essa razão, a DF foi incluída nas ações da Política Nacional de Atenção Integral à Saúde

da População Negra e nos artigos 187/188 da Portaria MS/GM nº 2.048, de 3 de setembro de 2009 que regulamenta o SUS. De acordo com Programas Estaduais de Triagem Neonatal, os estados brasileiros com maior incidência de nascidos vivos diagnosticados com doença e traço falciformes foram Bahia e Rio de Janeiro, seguidos por Pernambuco e Maranhão.

O Ministério da Saúde, em março de 2018, ampliou a faixa etária para indicação de transplante de medula aparentado para tratamento da doença falciforme - doença genética que atinge principalmente a população negra. Agora a idade não é mais critério de restrição para esse transplante, único método de curar a doença. Em 2015, foram diagnosticados 1.145 novos casos da doença no Programa de Triagem Neonatal do SUS²⁴.

Uma vez que o traço genético para uma determinada hemoglobinopatia pode ser silencioso, mas se manifestar na geração seguinte em homozigose, torna-se essencial a conscientização da população heterozigota para a Hb S e outras hemoglobinopatias, em relação aos riscos de se ter um filho acometido por essas doenças na forma grave e as implicações disso na saúde, na família e na sociedade.

A hemoglobina S apresenta alterações fisiopatológicas cujos graus de repercussão ao portador estão na dependência da constituição do genótipo. O diagnóstico da patologia pode ser feito desde o pré-natal até a idade adulta com uma boa anamnese do paciente, verificando a contribuição familiar com a presença de heterozigose nos genitores²⁵.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo permitem concluir que a incidência de hemoglobina variante S de herança heterozigota, caracterizando o traço falcêmico, é de aproximadamente 2% em população universitária de Alfenas, MG, sendo semelhante à encontrada na população brasileira.

Participação dos autores: Batista GS, Santos NA, Marquetti VB, Mota WB - Planejamento do projeto, processo de coleta e análise dos dados e a elaboração e revisão do manuscrito. Silvério ASD - Planejamento do projeto, processo de coleta e análise dos dados, orientação científica, confecção do manuscrito e revisão.

REFERÊNCIAS

1. Vrettou C, Kakourou G, Mamas T, Traeger-Synodinos J. Prenatal and preimplantation diagnosis of hemoglobinopathies. *Int J Lab Hematol*. 2018;40(Suppl 1):74-82. doi: 10.1111/ijlh.12823.
2. Thein SL. Milestones in the history of hemoglobin research (in memory of professor Titus H.J. Huisman). *Hemoglobin*. 2011;450-62. doi: 10.3109/03630269.2011.613506.
3. Modell B, Darliso M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008;86(6):480-7. doi: 10.2471/blt.06.036673.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Doença falciforme: conhecer para cuidar. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2015 [citado 9 jun. 2017]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_diretrizes_basicas_linha_cuidado.pdf.
5. Figueiró AIVM, Ribeiro RLR. Vivência do preconceito racial e de classe na doença falciforme. *Saude Soc*. 2017;26(1):88-99. <https://doi.org/10.1590/s0104-12902017160873>.
6. Lidonnici MR, Ferrari G. Gene therapy and gene editing strategies for hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis*. 2018;70:87-101. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.12.001>.
7. Ferreira MKB. Um olhar sobre a assistência prestada na rede pública estadual. Hemocentro Regional de Juiz de

- Fora [dissertação]. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina; 2012 [citado 9 jun. 2017]. Disponível em: <http://www.ufjf.br/pgsaudecoletiva/files/2013/03/doen%C3%87a-falciforme-um-olhar-sobre-a-assist%C3%8ancia-prestada-na-rede-P%C3%9ablica-estadual-Hemocentro-regional-de-Juiz-de-Fora.pdf>.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Doença falciforme. Diretrizes básicas da linha de cuidado. Brasília; 2015 [citado 01 jun. 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_diretrizes_basicas_linha_cuidado.pdf.
9. Naoum PC, Domingos CRB. Técnicas laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais. In: Naoum PC, editor. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier; 1997 p.155-6.
10. Vella F. Acid agar gel electrophoresis of human hemoglobin. *Am J Clin Pathol*. 1968;49(3):440-2. doi: 10.1093/ajcp/49.3_ts.440.
11. Prudêncio BCAB, Covas DT, Bonini-Domingos CR. Comparação de metodologia utilizada para a detecção de hemoglobina S (HbS) em doadores de sangue. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000;22(2):99-109. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842000000200006>.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Triagem neonatal biológica (manual técnico). Brasília; 2016 [citado 01 jun. 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf.
13. Lieber SRR. Incidência de hemoglobinopatias numa amostra da população da cidade de São Paulo. São Paulo: Mackenzie; 2012.
14. Santiago RP, Oliveira RM, Soares LF, Figueiredo CVB, Silva DO, Hurtado-Guerrero AF, et al. Hemoglobin variant profiles among Brazilian Quilombola Communities. *Hemoglobin*. 2017;41(2):83-88. doi: 10.1080/03630269.2017.1321014
15. Rauber JSS. Anemia falciforme: a doença hereditária de maior prevalência no Brasil [Monografia]. Foz do Iguaçu, PR: Universidade Federal do Paraná, Curso de Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio; 2014. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/46730>.
16. Giovelli LL, Danieli K, Bortolotto AN, Mastella AK, Prior MP, Castro SM, et al. Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue. *J Bras Patol Med Lab*. 2011;47(2):137-40. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442011000200007>.
17. Perin C, Cervo Filho E, Becker FL, Baldisserotto FM, Ramos GZ, Antonello JS, et al. Anemia falciforme. Porto Alegre: Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Departamento de Ciências Morfológicas, Disciplina de Genética e Evolução; 2000 [citado 9 jun. 2017]. Disponível em: <http://genetica.ufcspa.edu.br/seminarios%20textos/AnemiaFalciforme.pdf>.
18. Araújo G. Anemia falciforme: prevalência, sintomas, tratamento, causas e traço falciforme. São Paulo; 2013 [citado 9 jun. 2017]. Disponível em: <http://www.especialista24.com/anemia-falciforme/>.
19. Brasil. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Triagem Neonatal. Doenças falciforme e outras hemoglobinopatias. Brasília; 2017 [citado 1 jun. 2018]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/doencas-falciformes-df-e-outras-hemoglobinopatias>.
20. Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2007;29(3):204-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842007000300002>.
21. Martins PRJ, Souza HM, Silveira TB. Morbimortalidade em doença falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(5):378-83. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842010000500010>.
22. Felix AA, Souza HM, Ribeiro SBF. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010;32(3):203-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-84842010005000072>.
23. Brasil. Ministério da Saúde. Doença falciforme. O que se deve saber sobre herança genética. Brasília; 2014 [citado 1 jun. 2018]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_deve_saber_sobre_heranca.pdf.
24. Brasil. Ministério da saúde. Doença falciforme. Brasília; 2018 [citado 3 jun. 2018]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42891-ministerio-da-saude-amplia-faixa-etaria-de-transplante-para-doenca-falciforme>.
25. Oliveira RAG. Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais. São Paulo: Roca; 2004.

Recebido: 07/04/18

Aceito: 13/05/20