

HEMOGLOBINOPATIAS E TALASSEMIAS EM UMA AMOSTRA DO RIO GRANDE DO SUL

Coordenador: SIMONE MARTINS DE CASTRO

O projeto visa implantar um laboratório de referência em hemoglobinopatias para fins de diagnosticar e estabelecer a frequência de hemoglobinas variantes e talassemias, em amostras de pacientes identificados no Laboratório do Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado do Rio Grande do Sul e de pacientes com anemia a esclarecer no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS. A hemoglobina (Hb) é uma proteína conjugada constituída por um tetrâmero formado por dois pares de cadeias polipeptídicas (globinas). De acordo com a fase de desenvolvimento, diferentes tipos de cadeias globínicas são sintetizadas, promovendo a formação de diferentes hemoglobinas: embrionária, fetal e adulta. As frações normais em um adulto saudável são: Hb A (alfa₂,beta₂), Hb A₂(alfa₂,delta₂) e Hb F (alfa₂, gama₂). As anemias hereditárias por defeito da hemoglobina estão entre as doenças genéticas mais comuns. Compreendem um grupo de condições de variável complexidade, no qual, mais de 1.200 mutações envolvendo os genes das cadeias globinas já foram descritas. De uma maneira geral, as anemias hereditárias podem ser divididas em dois grupos: as hemoglobinopatias caracterizadas pela presença de hemoglobinas estruturalmente anormais, também denominadas de variantes, e as talassemias caracterizadas pela síntese deficiente de uma ou mais cadeias polipeptídicas das hemoglobinas humanas normais, sendo classificadas em alfa e beta. A população brasileira caracteriza-se por apresentar grande heterogeneidade genética, derivada dos seus grupos raciais formadores e dos diferentes graus de miscigenação nas várias regiões do país. Estudos de prevalência regionais demonstram que as hemoglobinas variantes mais frequentes e clinicamente significantes são as Hb S, Hb C e Hb D. Em 2001, o Ministério da Saúde incluiu a pesquisa de hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), através da Portaria 822/01, reconhecendo a sua relevância na saúde pública do Brasil. O diagnóstico e o tratamento precoces aumentam a sobrevida dos afetados. Conciliando-se a estes um aconselhamento genético permite-se a redução da incidência da doença e a melhora da qualidade de vida do paciente. A diversidade genética das hemoglobinopatias leva frequentemente ao emprego combinado de métodos para seu diagnóstico. Dados como estado clínico, hematológico e origem do paciente são relevantes e auxiliam no diagnóstico. A fim de identificar essas anormalidades genéticas são realizados os seguintes

métodos: (1) Hemograma: este método permite classificar as anemias através dos índices hematimétricos. As talassemias geralmente provocam anemia hipocrômica e microcítica, fato que deve ser investigado no caso de suspeita de carência de ferro no paciente. Especial atenção deve ser dada à morfologia dos eritrócitos. (2) Cromatografia líquida de alta precisão (HPLC): método que utiliza equipamento automatizado com colunas de diferentes gradientes de pH e de composição química, adquirida conforme o teste que se realiza. Permite detectar e quantificar Hb F, Hb A₂ e algumas variantes hemoglobínicas. (3) Focalização isoeletrica (IEF): o princípio permite a adequada separação entre as Hb C, Hb E e Hb O e entre as Hb S, Hb D e Hb G, em função dos diferentes pontos isoeletricos que estas apresentam. Para realização dos métodos β utilizou-se: contador automatizado de células (Cromatografia Líquida de Alta Precisão (Bio-Rad Variant Hemoglobin Testing System - beta-Thal Short Program) e Focalização Isoeletrica (FIE) (Wallac - Perkin Elmer), segundo instruções dos fabricantes. As técnicas realizadas no período de outubro de 2002 a julho de 2005, analisaram 1822 amostras de sangue periférico de crianças e familiares oriundas do Serviço de Rastreamento Neonatal ou de pacientes, com suspeita de hemoglobinopatias, provenientes do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). As amostras foram coletadas em tubos com EDTA e processadas no Laboratório de Hemoglobinas. Os dados foram analisados usando o pacote estatístico EPI-INFO, versão 6.0 e SPSS versão 11.0. Para cálculos de diferenças entre os grupos foi utilizado um alfa = 0,05. Das 1822 amostras analisadas, 44,2% dos indivíduos eram do sexo masculino e 55,8% eram do sexo feminino, com idades variando entre 1 mês e 74 anos. A idade média apresentada pelas crianças encaminhadas pelo Rastreamento Neonatal foi de 7,5 meses (entre 1 e 48 meses) e a idade média dos pacientes foi de 25 anos (entre 1 e 74 anos). Os perfis hemoglobínicos identificados foram Hb AA (50,1%), Hb AS (31,2%), Hb AC (5,8%), Hb AD (1,2%), Hb SS (1,0%), Hb SC (0,3%), Hb S/Talassemia beta(0,3%), Talassemia beta (6,6%), Talassemia alfa (0,1%), Hb DD (0,1%), raros descobertos (0,9%) e inconclusivos (2,4%). Verificou-se que o traço falciforme (Hb AS) foi a alteração mais freqüente identificada entre as amostras da triagem neonatal (43.4%). Já, entre os pacientes com anemia a esclarecer, a talassemia beta foi a alteração com maior percentual (17.1%). Além disso, o grande número de indivíduos heterozigotos (Hb AS, Hb AC e Hb AD) demonstra a importância da detecção dos mesmos, pois o diagnóstico adequado favorece a instalação de programas com aspectos educacionais e assistenciais, fundamentais para pessoas portadoras destas alterações genéticas. Realizou-se uma comparação das médias das frações hemoglobínicas dos portadores de Hb AA, Hb AS, Hb AC e

Talassemia beta obtidas pelo HPLC. Através desta, verificou-se que haviam diferenças significativas nestes percentuais. A média de Hb A2 nos portadores de Hb S e de Talassemia beta mostrava-se aumentada. Na presença de Hb S, o método empregado apresenta uma limitação técnica, fazendo com que os valores de Hb A2 apresentem-se falsamente elevados, sendo necessário o emprego de exames complementares para quantificação dessa Hb. Do ponto de vista clínico, o presente estudo permitiu a identificação de 20 pacientes com anemia falciforme (Hb SS), 5 pacientes portadores de S/Talassemia beta, 6 indivíduos com dupla heterozigose para as Hb S e C (Hb SC). A identificação precoce destes pacientes favorece o tratamento adequado, antes mesmo das manifestações clínicas, sendo capaz de propiciar atendimento médico adequado, permitindo redução nos índices da mortalidade e morbidade. Com relação aos pacientes com anemia a esclarecer, a identificação de 120 indivíduos com talassemia beta reforça a importância do diagnóstico para esta alteração genética, clínica e laboratorialmente semelhante à anemia ferropriva. Desta maneira, evita-se administração de ferro, além de consultas e exames médicos desnecessários. A presença de 43 amostras classificadas como inconclusivas, demonstra a existência de outras hemoglobinas variantes que necessitam de técnicas de biologia molecular, como PCR e seqüenciamento, para sua correta identificação. Apesar da importância, ainda há a carência de um programa global de atendimento aos pacientes, envolvendo o diagnóstico e o aconselhamento genético. Por esta razão, serviços como este, recém implantado no Estado, devem ser incentivados a ter continuidade, devido a viabilidade e aos benefícios que são gerados, como treinamento de pessoal qualificado e como o desenvolvimento de pesquisas e de projetos de extensão dentro da comunidade acadêmica.