

Estudo do perfil de hemoglobinas em 9.189 testes realizados no Alvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas*

The Characteristic of 9,189 Tests of Hemoglobinopathy Diagnostic from the Alvaro Center of Clinical Chemistry and Research in the 2004 year

Cleiton Paulo Aigner^{1,2,3}; Fabiano Sandrini^{1,2}; Edmir Gonçalves Duarte^{1,2}; Mauricio Pacheco Andrade^{1,2}; Marco Antonio Largura^{1,2} & Alvaro Largura^{1,2}

RESUMO - As hemoglobinopatias são um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por alterações que envolvem genes estruturais e promovem a formação de moléculas de hemoglobinas com variações polimórficas características. Essas alterações, denominadas variantes, possuem frequências diversificadas, de acordo com distribuição geográfica e/ou étnica. Avaliou-se o perfil hemoglobínico dos testes realizados no Alvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas, durante o ano de 2004. Foram analisados 9189 testes, realizados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), provenientes de todas as regiões do Brasil. Das amostras analisadas, 81,02% apresentaram perfil hemoglobínico normal, enquanto foi observada alteração em 18,98%. Destas, os perfis hemoglobínicos identificados foram: Hb AS 9,11%; sugestivo de beta talassemia 5,50%; Hb AC 2,47%; Hb SS 0,76%; Hb SC 0,39%; Hb CC 0,20%; PHHF 0,19%; Hb AD 0,18%; e outras formas raras de hemoglobinas em 0,18%. Observou-se que houve predomínio da prevalência de Hb AS (traço falciforme) entre os testes com perfil hemoglobínico alterado. Ainda, houve uma frequência relativamente elevada de testes sugestivos de beta talassemia.

PALAVRAS-CHAVE - Hemoglobinopatias, perfil de hemoglobina.

SUMMARY - The hemoglobinopathies are a heterogeneous group of haemoglobin disturbs characterized by the structural genes mutations which results in polymorphic haemoglobin molecules. These abnormal hemoglobins are called "hemoglobin variants". Their frequencies vary accordingly to the geographic region and/or ethnic group distribution. Quantification of the various hemoglobin structures was performed in 9189 samples from all over Brazil. The variants hemoglobin frequency and beta-thalassemia were analyzed. The normal hemoglobin structure and its variants were detected by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). We found 7445 (81.02%) samples presenting normal hemoglobin structure, Hb AA; whereas 1744 (18.98%) samples revealed some abnormality. The following characteristics were observed among the abnormal hemoglobins: Hb AS (9.11%); suggestive of beta thalassemia (5.50%); Hb AC (2.47%); Hb SS (0.76%), Hb SC (0.39%); Hb CC (0.20%); Hb AD (0.18%); and some other rare hemoglobins (0.18%). From our study, we were able to identify a major prevalence of sickle cell trait (Hb AS) among the various haemoglobin variants. In addition to that, we were able to identify a higher relative frequency of suggestive of beta-thalassemia tests in this population.

KEYWORDS - hemoglobinopathy, abnormal haemoglobin, haemoglobin variants.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias correspondem a um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por alterações, qualitativas ou quantitativas, que envolvem a síntese de genes estruturais e promovem a formação de moléculas de hemoglobinas com variações polimórficas características (1). Essas alterações, denominadas de variantes, possuem frequência variada, de acordo com distribuição geográfica e/ou étnica (17,18).

O tema hemoglobinopatias vem sendo muito estudado e está bem caracterizada na população brasileira, principalmente, sua prevalência e distribuição em regiões e grupos étnicos distintos (9). A distribuição das hemoglobinas anormais, que provem de formas variantes e talassemias, tem relação direta com as etnias formadoras da nossa população.

A maioria dos estudos sobre prevalência de hemoglobinas descritos no Brasil tem caráter regional, ao ser avaliado em doadores de banco de sangue ou realizados em triagem neonatal. Poucos são os estudos que envolvem a população proveniente de todas as regiões brasileiras. A avaliação re-

alizada em laboratório clínico pode retratar a frequência das variações de hemoglobina na população brasileira.

Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil hemoglobínico dos exames realizados no Álvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas durante o ano de 2004.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma análise retrospectiva dos resultados de exames de perfil de hemoglobinas, realizados no período de janeiro a dezembro de 2004, na Unidade de Eletroforeses do Centro de Análises e Pesquisas Clínicas Álvaro, Cascavel, Paraná. Excluiu-se resultados de pacientes com menos de 6 meses de idade. A pesquisa de alfa talassemia não está presente nesta análise, pois esta é realizada somente com solicitação específica.

As amostras eram provenientes de laboratórios localizados em todos os estados do país. Os exames foram realizados utilizando amostras de sangue, colhidas com anticoagulante (EDTA). Todas as amostras foram avaliadas utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) associada à cromatografia de troca iônica no equipamento Variant II (BIO-RAD, Hercules, CA).

Recebido em 18/08/2005

Aprovado em 28/11/2005

*Trabalho realizado no Álvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas

¹Instituto de Investigação Científica do Paraná

²Álvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas

³Universidade Paranaense

Neste sistema, as hemoglobinas são diferenciadas pelos seus tempos de retenção. Cada hemoglobina tem um tempo de retenção característico. Tempo de retenção é o tempo transcorrido entre a injeção da amostra até o ápice do pico da hemoglobina (Fig. 1).

As amostras que apresentaram a fração de hemoglobina A2 (Hb A2) elevada foram submetidas ao teste de Resistência Osmótica em solução de Cloreto de Sódio à 0,36% (16). Foram considerados como indicativos de indivíduos beta talassêmicos todos os indivíduos que apresentaram valores de hemoglobina A2 maiores que 3,5% e apresentaram teste de Resistência Osmótica, em solução de Cloreto de Sódio à 0,36% positivo.

RESULTADOS

Foram analisados 9189 resultados de testes realizados durante o ano de 2004 na Unidade de Eletroforeses do Alvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas. As amostras eram provenientes de todos os estados brasileiros.

Do total analisado, 7445 resultados (81,02%), apresentaram perfil hemoglobínico normal, Hb AA, enquanto que 1744 amostras (18,98%) demonstraram alguma alteração, qualitativa ou quantitativa (Fig. 2).

Entre os resultados alterados, os perfis hemoglobínicos identificados apresentaram grande diversidade genética, ficando assim distribuídos: Hb AS 9,11%, suspeita de beta talassemia 5,50%, Hb AC 2,47%, Hb SS 0,76%, Hb SC 0,39%, Hb CC 0,20%, PHHF (Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal) 0,19%, Hb AD 0,18% e Hemoglobinas raras 0,18%. A tabela 1 apresenta a distribuição dos genótipos encontrados.

A distribuição somente dos resultados que demonstraram alterações nas hemoglobinas está ilustrado na figura 3.

TABELA I
Distribuição das diferentes variantes de hemoglobinas observadas nas 9189 amostras avaliadas.

Genótipo	AA	AS	beta-tal	AC	SS	SC	CC	PHHF	AD	outras
n	7445	838	506	227	70	36	19	18	17	17
%	81,02	9,11	5,50	2,47	0,76	0,39	0,20	0,19	0,18	0,18

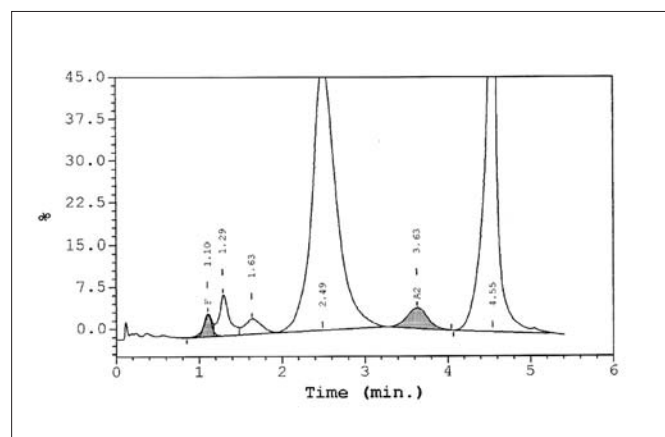


Figura 1 - Cromatograma de análise por HPLC. Os tempos de retenção apresentados sugerem "traço falciforme" (Hb AS).

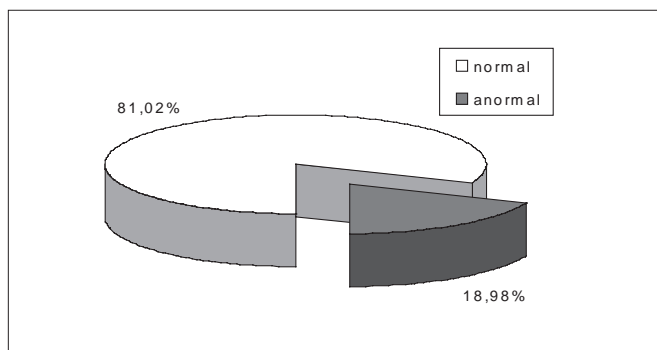


Figura 2 - Distribuição de resultados normais ou anormais das 9.189 amostras avaliadas.

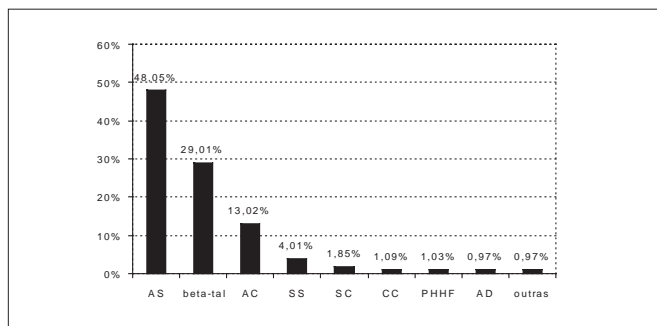


Figura 3 - Figura 3 - Frequência observada das diferentes variantes no grupo que compreende hemoglobinas anormais.

DISCUSSÃO

A distribuição das hemoglobinas anormais varia de acordo com as populações estudadas, tem-se descritas em torno de 750 hemoglobinas variantes e cerca de 300 tipos diferentes de talassemias (6,7). A miscigenação racial característica da população brasileira é um fator preponderante na dispersão de genes anormais característicos das doenças falciformes e talassemias (2).

Por tratar-se de um centro de apoio a laboratórios, o Alvaro Centro de Análises e Pesquisas Clínicas recebe amostras de pacientes que já passaram por uma triagem prévia como também de pacientes com anemias a esclarecer e pacientes de rotina. Esse fato pode auxiliar na justificativa dos resultados encontrados, principalmente o número de hemoglobinas anormais e de sugestivos de beta talassemia, apresentar-se mais elevados que os encontrados em estudos anteriores realizados em diversas regiões do país (1,8,9,14,18).

As hemoglobinas variantes com maior frequência na população brasileira, não se diferenciando de nossa análise, são as hemoglobinas S (Hb S) e C (Hb C), as quais têm origem africana, fato que evidencia a participação intensa do negro africano na formação da população brasileira (15,18). No entanto, a miscigenação ocorrida no Brasil fez com que essas hemoglobinas deixassem de se restringir à população descendente de africanos, sendo encontradas também em outros grupos étnicos (1). A hemoglobina S é tida como a alteração hematológica hereditária mais frequente e conhecida no homem (11). Concordando com o resultado desta análise, a Hb S é a mais frequente hemoglobina variante encontrada; ela pode apresentar-se sobre a forma heterozigota, Hb AS (traço falciforme) ou sobre a forma homozigota Hb SS, forma que torna os indivíduos portadores de anemia falciforme (12).

A beta-talassemia está entre as 03 mais freqüentes hemoglobopatias encontradas no Brasil (18). Indivíduos beta-talassêmicos podem apresentar anemia leve, que pode intensificar-se em determinadas situações, como na gravidez, situações de estresse e quando associada com outros processos patológicos. A imigração dos povos do mediterrâneo, principalmente italianos, contribuiu na formação da população, principalmente no Sul e Sudeste do Brasil; houve um grande fluxo de imigrantes italianos provenientes de determinadas regiões onde a freqüência de indivíduos beta-talassêmicos encontrada pode ter sido bastante elevada, variando de 0,4% a 20,0% (8). Diferenciando-se de outros estudos, o segundo perfil hemoglobínico em prevalência foi o de beta talassemia, apesar do mesmo não ter sido confirmado por investigações moleculares. Valores normais de Hb A2 unidos a valores limítrofes nos índices hematimétricos, demonstram alguns estudos, não são suficientes para excluir a possibilidade de beta talassemia (8). Muitos estudos tiveram como fonte de dados os bancos de sangue (1,9,13,14), outros foram realizados a partir da triagem neonatal (8,9,14), neste estudo foram utilizados resultados de pacientes provenientes de todas as regiões do país, que já passaram por uma triagem prévia ou pacientes com anemias a esclarecer ou ainda pacientes de rotina. Estas diferenças, nos grupos estudados, bem como as variações técnicas e a heterogeneidade étnica da população brasileira, podem justificar as diferenças obtidas relativas ao número e prevalência de resultados encontrados. Contudo, em nosso estudo e em diversos outros (3,13,18) a Hb S, principalmente em sua forma heterozigota, foi a que teve prevalência.

CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho nos permitem concluir que houve uma prevalência de Hb S (traço falciforme) entre os testes com perfil hemoglobínico alterado, resultado semelhante a vários trabalhos descritos na literatura. Observamos, também, uma freqüência elevada de suspeita de beta talassemia quando comparado com trabalhos anteriores.

REFERÊNCIAS

1. Bezerra, T.M.; Andrade S.R. Investigação sobre a prevalência de hemoglobinas anormais entre doadores de sangue. Rev Bras Anal Clin. 23:117-8. 1991.
2. Bonini-Domingos, C.R. Prevenção das hemoglobopatias no Brasil: diversidade genética e metodologia laboratorial. Tese (Doutorado em Ciências Bio-

lógicas) Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista - UNESP. 138 p. São José do Rio Preto, 1993.

3. Ducatti, R.P.; Teixeira, A.E.A.; Galão, H.A.; Bonini-Domingos, C.R.; Fett-Conte, A.C. Investigação de hemoglobopatias em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos do Hospital de Base de São José do Rio Preto. Rev Bras Hematol Hemoter. 23:23-9. 2001.
4. Fortova, H.; Slavikova, V.; Musil, F.; Suttner, J.; Brabec, V. Diagnosis of beta-thalassemia on the basis of Hb A2 determination. Vnitr Lek. 41:302-6. 1995.
5. Gasperini, D.; Cao, A.; Paderi, L.; Barella S, Paglietti E, Perseu L, et al. Normal individuals with high Hb A2 levels. Br J Haematol. 84:166-8. 1993.
6. International Hemoglobin Information Center. A Syllabus of Human Hemoglobin Variants. Hemoglobin. 1998
7. International Hemoglobin Information Center. A Syllabus of Thalassemia Mutations. 1997.
8. Lisot, C.L.A.; Silla, L.M.R. Triagem de hemoglobopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana. Cad. Saúde Pública. vol.20, no.6, p.1595-1601. 2004.
9. Melo, S.M.A.; Arantes, S.C.F.; Botelho Filho, A.; Rocha, A.F.S. Prevalência de Hemoglobopatias em Doadores de Sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia - MG. Rev Bras Hematol Hemoter. 22 Suppl:51. 2000.
10. Metaxotou-Mavromati, A.; Kattamis, C.; Matathia, L.; Tzetzis, M.; Kanavakis, E. Clinical haematological and genetic studies of type 2 normal Hb A2 beta thalassemia. J Med Genet. 25:195-9. 1988.
11. Naoum, P.C. Eletroforese, Técnicas e Diagnósticos. 2.ed. São Paulo: Editora Santos, 1999.
12. Naoum, P.C. Hemoglobopatias e talassemias. São Paulo: Editora Sarvier, 1997.
13. Orlando, G.M.; Naoum, P.C.; Siqueira, F.A.M.; Bonini-Domingos C.R. Diagnóstico laboratorial de hemoglobopatias em populações diferenciadas. Rev Bras Hematol Hemoter. 22:111-21. 2000.
14. Prudêncio, B.C.A.B.; Covas, D.T.; Bonini-Domingos, C.R. Comparação de metodologia utilizada para a detecção de hemoglobina S (Hb S) em doadores de sangue. Rev Bras Hematol Hemoter. 22: 99-109. 2000.
15. Salzano, F.M.; Tondo, C.V. Hemoglobin types in Brazilian populations. Hemoglobin. 6:85. 1982.
16. Silvestroni, E.; Bianco, I. Screening for microcytemia in Italy: analysis of data collected in the past 30 years. Am. J. Human Genet. 27: 198. 1975.
17. Tondo, C.V.; Salzano, F.M. Abnormal hemoglobins in a Brazilian negro population. Am J Human Genet. 14:401-9. 1962.
18. Zago, M.A. Hemoglobopatias: prevalência e variabilidade. Rev Paul Med. 104:300-4. 1986.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Álvaro Largura
Rua Gal. Osório, 3191 - Centro
CEP. 85801-110 Cascavel - PR
E-mail: alvaro@alvaro.com.br

IFCC WORLDLAB Fortaleza - Brasil

**20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial
XXXV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas
VIII Congresso Brasileiro de Citologia Clínica**

28 de setembro - 2 outubro/2008

Local:
Centro de Convenções do Ceará