

**Fortaleza – Ceará
2002**

**Frequência de Hemoglobinas Anormais em sangue de cordão
umbilical de recém-nascidos na
Maternidade-Escola Assis Chateaubeand.**

Francisca Rosamar Távora Pinheiro

Orientadora: Prof(a). Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves

Francisca Rosamar Távora Pinheiro

Farmacêutica-Bioquímica

**Frequência de Hemoglobinas Anormais em Sangue de Cordão
Umbilical de Recém-nascidos na
Maternidade-Escola Assis Chateauband.**

**Trabalho apresentado como requisito final do Curso e
Especialização em Hematologia e Hemoterapia.
Universidade Federal do Ceará/HEMOCE**

**Fortaleza – Ceará
2002**

“O senhor é o meu rochedo, e o meu lugar forte
e o meu libertador; o meu Deus, a minha fortaleza,
em quem confio; o meu escudo,
a força da minha salvação e o meu auto-refúgio”.

Salmo 18:2

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se à derrota, do que formar fila com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhecem vitória nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus filhos Francisco Márcio e Manuel Rodrigo, tudo por eles e para eles.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus filhos por terem suportado a minha ausência.

Ao Senhor Antonio Fernandes Neto pela gratidão, amizade e entendimento.

A Dr^a Romélia Pinheiro Gonçalves minha eterna gratidão pela orientação científica.

A Dr^a Vânia Barreto A. F. Gomes pelas palavras de incentivo e apoio.

A todos os professores e funcionários que atuaram direta ou indiretamente no Curso de Hematologia e Hemoterapia.

Aos bolsistas do Departamento de Hematologia da FFOE: Márcio Medeiros da Silva, Russel de Sousa Câmara e Carlos Alberto Pereira da Silva; e às bolsistas do Departamento Materno-infantil da MEAC: Ana Elisa Evangelista Alcântara e Anna Reneé Cintra Marques, pelo apoio nas coletas e tratamento das amostras.

A André de Freitas Menezes pelo tratamento dos dados estatísticos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	08
INTRODUÇÃO.....	09
OBJETIVO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

Freqüência de Hemoglobinas Anormais, em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubreand.¹

RESUMO

As hemoglobinopatias são alterações na molécula da hemoglobina e representam um importante grupo de anormalidades hereditárias na população. O presente estudo tem como objetivo avaliar a freqüência de hemoglobinas anormais, em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubreand. Um total de 322 amostras foram obtidas a partir de um segmento de 15 a 20 cm de cordão umbilical, após ser ligado e seccionado com pinça de Kelly, o sangue contido nesse segmento de cordão foi introduzido de imediato, por gotejamento, com o afrouxamento da pinça da extremidade inferior, sem ordenha, em um tubo de ensaio contendo EDTA a 5%, em seguida ao parto (normal ou cesário). As mesmas foram submetidas à análise da hemoglobina, através da Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC) e a realização do hemograma por método automatizado, com revisão de lâminas. Os resultados exibiram o seguinte perfil: do total analisado (n=322), 15 recém-nascidos apresentaram hemoglobinas anormais, sendo 13 heterozigoto para a hemoglobina S^V e 2 heterozigoto para hemoglobina C. A prevalência de traço falciforme e traço para HbC foi respectivamente de 4.04% e 0.62%. Esses valores indicam a importância da triagem neo-natal para o diagnóstico de hemoglobinopatias.

¹ Trabalho apresentado como requisito final do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

INTRODUÇÃO

Hematopoiese

Na medula óssea, estão as células denominadas de células-tronco hemopoéticas pluripotenciais, a partir das quais derivam todas as células do sangue. As sucessivas divisões das células pluripotenciais formam células que seguem dois destinos: um permanecendo como células-tronco hemopoéticas pluripotenciais, mantendo esta população; e outro se diferenciando em tipos celulares com características específicas (Figura 1).¹⁰

A célula-tronco diferencia-se para formar as células-tronco comprometidas: CFU-S (unidade formadora de colônia esplênica) e LSC (células-tronco linfóides). A CFU-S dá origem a todas as células hematopoéticas, com exceção dos linfócitos. Originando CFU-B (unidade formadora de colônia blastos), que em seguida se diferenciam em CFU-E (unidade formadora de colônia eritrócitos), tendo como produto final as hemácias, o CFU-GM (unidade formadora de colônia granulócito-monócito), gerando as células: neutrófilo, eosinófilo, basófilo monócito; e CFU-M (unidade formadora de colônia megacariócito), que origina as plaquetas. A LSC dá origem aos linfócitos (T, B e NK).¹⁰

Todos os eventos que acontecem durante o crescimento e a reprodução das diversas células-tronco são controlados por múltiplas proteínas denominadas indutores do crescimento e de diferenciação. Entre os indutores de crescimento temos a interleucina-3 que promove o crescimento e reprodução de todos os diferentes tipos de células-tronco, enquanto outros induzem o crescimento de tipos específicos de células-tronco.^{10, 27}

Gênese das Células Sanguíneas

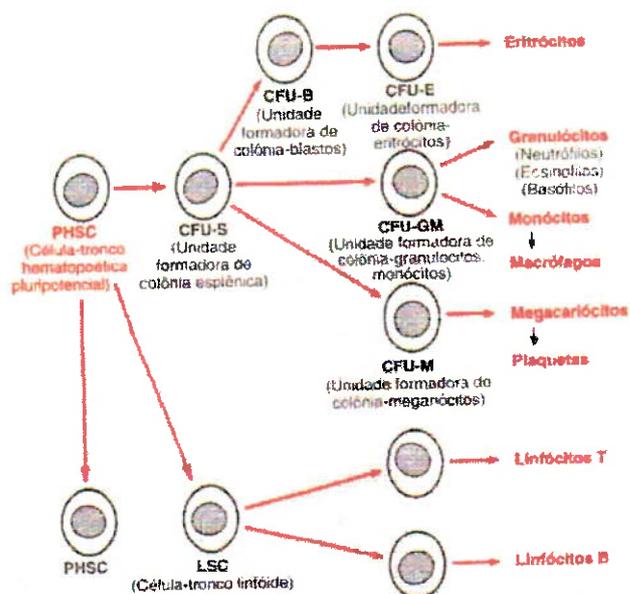


Figura – 1: Formação de diferentes células sanguíneas periféricas a partir da célula – tronco hematopoiética pluripotencial primitiva (PHSC) na medula óssea.

Gênese das Hemácias

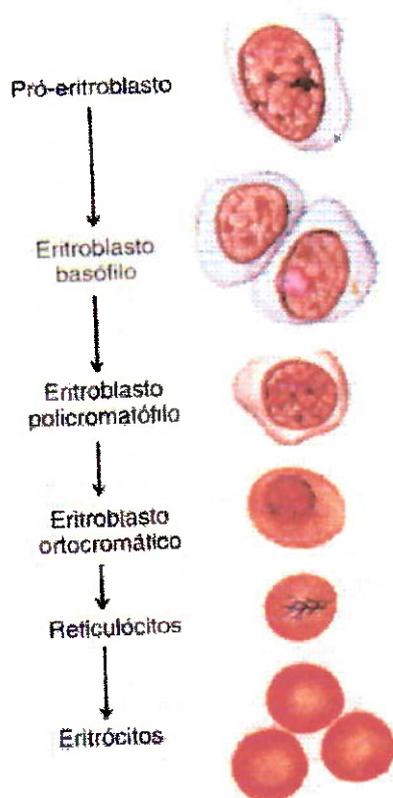


Figura – 2 : Gênese das Hemácias

Eritropoiese

As primeiras células sangüíneas se formam nas ilhotas de Wolf do saco vitelino do embrião (fase extra embrionária), gradualmente essa função é transferida para outros órgãos como o fígado e baço (fase hepatoesplênica), timo, linfonodo e medula óssea (fase medular). Os eritrócitos primitivos, nucleados, são produzidos no mesoderma do saco vitelino, sendo denominados de megaloblastos e hipocrômicos.^{10, 27, 30}

As células mais superficiais de cada ilhota dão origem ao endotélio dos primeiros vasos, enquanto as mais internas tornam-se esféricas, diferenciam-se em hemocitoblastos que se dividem no interior dos vasos sangüíneos e formam eritroblastos primitivos (eritropoiese megaloblástica).^{10, 27}

A partir do segundo mês de gestação, o fígado passa a produzir eritrócitos e no segundo trimestre passa a ser o principal órgão de produção eritrocítica, embora seja produzida uma quantidade razoável no baço e nos linfonodos. Na última fase da gestação e após o nascimento, os eritrócitos são produzidos exclusivamente pela medula óssea.^{10, 30} A clavícula é o primeiro osso a mostrar atividade hemocitopoiética. No segundo ou terceiro mês sua medula óssea está funcionando. A medula óssea mostra grande atividade eritrocitária, granulocítica, megacariocítica e também produz linfócitos e monócitos.²⁷

O pró-eritroblasto é a primeira célula que pode ser identificada morfológicamente como pertencendo à série eritrocítica (Figura 2), divide-se várias vezes, formando eritroblastos maduros. As células consideradas de primeira geração são denominadas de eritrócitos basófilos, coram-se por corante básico. O processo de maturação segue com a formação dos eritroblastos policromotófilos, eritroblastos ortocromáticos, reticulócitos e hemácias.¹⁰

A célula eritrocítica ganha maturidade graças a uma seqüência de eventos tais como: diminuição do volume celular, a cromatina nuclear torna-se cada vez mais densa até que o núcleo apresenta-se picnótico e finalmente expulso da célula, diminuição do tamanho do núcleo e dos polirribossomos (basófilos), aumento da concentração de hemoglobina no citoplasma e diminuição da quantidade de mitocôndrias. Após essa seqüência de eventos a célula eritrocítica transforma-se em eritrócito maduro.^{10, 27}

Existem alguns fatores que regulam a produção de eritrócitos. Um desses fatores é a oxigenação tecidual. Isso acontece geralmente quando há condição passível de

causar redução da quantidade de oxigênio transportado para o tecido, gerando aumento da produção de eritrócitos. Assim, quando um indivíduo fica anêmico devido a uma hemorragia ou a qualquer outra condição, a medula óssea inicia a produção de quantidades suficientes de eritrócitos para suprir a perda. Em condições normais, a medula óssea pode produzir entre 5 a 7 vezes mais eritrócitos com a finalidade de suprir a demanda de eritrócitos.²⁷

A eritropoetina é um importante agente regulador da síntese eritrocitária e tem sua formação em resposta a situações de hipóxia, sendo sintetizada principalmente nos rins. A exposição de um indivíduo a atmosfera com baixo teor de oxigênio induz à formação da eritropoetina em pouco tempo.²⁷ A eritropoetina age estimulando a produção de pró-eritroblastos a partir de células-tronco hemopoiética e a partir destes fazendo com que as células prossigam pelos estágios eritroblásticos mais rapidamente.^{10, 27}

Fatores nutricionais, como a vitamina B₁₂ e o ácido fólico, atuam também na maturação dos eritrócitos. A vitamina B₁₂ e o ácido fólico são essenciais para a síntese do DNA, uma vez que ambos participam da formação de trifosfato de timidina e consequentemente do DNA. Assim a deficiência de vitaminas B₁₂ e ácido fólico resultam em diminuição do DNA e, conseqüentemente, na insuficiência da maturação e divisões nucleares, interferindo na maturação das células eritrocíticas.^{10, 27}

Hemoglobinas normais

A hemoglobina, como já foi anteriormente mencionado, é uma proteína globular e oligomérica cuja principal função é o transporte de oxigênio de uma região de alta pressão, pulmões, para outra de baixa, tecidos. Quimicamente, é composta pela conjugação de um pigmento, o heme, e uma proteína, a globina. O heme é um complexo formado por um átomo de ferro situado no interior de uma estrutura porfirínica que o mantém no estado ferroso. A globina consiste de dois pares de cadeias polipeptídicas em um total de 574 aminoácidos.^{8, 18, 20}

As cadeias polipeptídicas da hemoglobina são sintetizadas sob controle genético. Esse controle pode ser delineado exercendo seu comando sobre dois grupos de genes: os estruturais, que são responsáveis pela estrutura específica de cada cadeia polipeptídica;

e um outro grupo de genes, reguladores, responsáveis pelo controle da quantidade de cada cadeia sintetizada^{1, 2, 14}. A síntese de hemoglobina mostra uma perceptiva mudança de desenvolvimento durante a vida pré e pós-natal. A primeira hemoglobina sintetizada durante o período mesoblástico da eritropoiese é composto de duas cadeias zeta (ζ_2) e duas cadeias épsilon (ϵ_2) chamada de Gower 1.¹³ Esse tetrâmero hemoglobínico é predominante na segunda semana de desenvolvimento. Outras duas hemoglobinas embrionárias são Portland, composta por duas cadeias zeta e duas gama (ζ_2, γ_2) e a Gower 2 constituída por duas cadeias alfa e duas épsilon (α_2, ϵ_2).^{20, 31}

As cadeias alfa e gama são formadoras da hemoglobina fetal (α_2, γ_2). A produção das cadeias gama se inicia aproximadamente na sétima semana de desenvolvimento, sendo responsável por grande parte do conteúdo hemoglobínico nesta fase. Durante o período correspondente entre a 12^a a 35^a semanas a proporção de Hb F decresce de 100 para 85%. Os eritrócitos fetais têm afinidade pelo oxigênio consideravelmente maior que os eritrócitos adultos. Esse fenômeno tem sido observado em algumas espécies de mamíferos e pode facilitar o transporte de oxigênio através da placenta. Esta discrepância na afinidade pelo oxigênio entre o sangue fetal e o do adulto pode ser explicado por uma diminuição na interação entre hemoglobina fetal e o 2,3-DPG, que não se liga tão bem às cadeias gama quanto às cadeias beta. A hemoglobina fetal pode persistir elevada em diferentes processos patológicos hematológicos hereditários e adquiridos (nas talassemias, anemia falciforme, persistência hereditária de hemoglobina fetal (PIHF), anemia megaloblástica, anemia aplástica, leucemias, dentre outras). Outra importante propriedade Hb F é de ser resistente a desnaturação alcalina ou ácida.¹⁵

A hemoglobina A₁ formada por dímeros de cadeia alfa e beta (α_2, β_2) é sintetizada a partir da 12^a semana e se mantém em concentrações próximas a 10% até o nascimento.^{14, 20}

A hemoglobina A₂ (α_2, δ_2) é produzida no final da vida pré-natal. Esse fato acontece devido ao gene da globina delta ser ativado nesse período. No sangue de cordão umbilical é possível detectar traços de hemoglobina A₂ que permanece numa concentração inferior a 3,3%.¹³ Essa hemoglobina, assim como a Hb F, pode encontrar-se em concentrações elevada em certos estados patológicos, como na anemia megaloblástica e nas talassemias, e diminuída como nas anemias ferropriva e sideroblástica.^{15, 20}

Hemoglobinas anormais

As hemoglobinopatias são distúrbios genéticos que afetam os genes estruturais. Alterações nesses genes promovem a formação de moléculas hemoglobínicas com características bioquímicas diferentes das normais.^{6, 13, 19, 20, 26, 27}

Podem ser classificadas de acordo com as características funcionais ou anormalidades estruturais. Essas alterações estruturais incluem substituições simples de um aminoácido por outro de característica diferente na superfície interna ou externa da hemoglobina. As substituições de aminoácidos na superfície externa da cadeia, com exceção da Hb S, não produzem alterações importantes no comportamento funcional da molécula.²⁰ Substituições de aminoácidos na superfície interna da molécula, envolvendo resíduos polares e não polares, especialmente nos locais invariantes da molécula, "pacote" do grupo heme, causam alterações mais significantes na molécula hemoglobina. Há alterações de substituições de dois aminoácidos por outros dois em uma mesma cadeia, sendo, portanto, evento raro. Deleções, adições de aminoácidos, adições de cadeias também representam fenômenos de alterações estruturais.^{18, 20}

A maioria das hemoglobinas anormais difere das hemoglobinas normais pela substituição, apenas, de um aminoácido por outro, a Hb S é um exemplo desse tipo de alteração.¹⁸

As hemoglobinas variantes apresentam características organizadas em grupos tais como: hemoglobinas sem alterações fisiológicas (exemplos Hb D, Hb E, Hb J, Hb I), nesse grupo encontram-se a maioria das hemoglobinas variantes, embora seja de interesse bioquímico e genético não produz efeito clínico; hemoglobinas de agregação, representadas pelas Hb S e Hb C, presença de produção de tactóides e cristais com observações clínicas e hematológicas; hemoglobinas instáveis, que apresentam grau variável de manifestações clínicas e hematológicas; e, por último, as hemoglobinas com alterações funcionais que apresentam entidades hemoglobínicas que causam metaemoglobinemia por Hb M e alterações na afinidade ao oxigênio.^{18, 19}

A frequência das hemoglobinopatias varia consideravelmente com a localização geográfica e grupo racial. As hemoglobinas S, C, D, Punjab e E são chamadas de hemoglobinas mais comuns por afetar milhões de indivíduos no mundo.¹³

As hemoglobinas variantes e síndromes talassêmicas distribuem-se heterogeneamente nos cinco continentes. As hemoglobinas S e C são encontradas com maior frequência na África, enquanto as diferentes formas de talassemias são predominantes na região do Mar Mediterrâneo (tipo β) e nos povos asiáticos, mediterrâneos e negros africanos (tipo α).¹⁸

A hemoglobina S é a mais comum das hemoglobinas anormais. A presença dessa molécula no indivíduo caracteriza a anemia falciforme. A maior incidência ocorre na parte oriental do continente africano, onde 40 a 50% dos membros de certas tribos estão afetados, e em menor frequência na África Equatorial.¹³

A hemoglobina C é encontrada em zona geográfica menor e mais demarcada, na África Ocidental. A maior prevalência na Gana Setentrional, onde 28% da população têm o gene.¹¹

O Brasil se caracteriza por significativa mistura racial onde o processo de colonização teve grande influência na dispersão dos genes anormais²⁹, principalmente falcemias e talassemias. Assim, as distribuições anormais, provenientes de formas variantes e talassemias, estão relacionadas com as etnias que compõem nossa população. Dentre as hemoglobinas variantes, as mais frequentes na população brasileira são: a hemoglobina S (Hb S) e C (Hb C), ambas de origem africana, mostrando a intensa participação do negro na composição populacional brasileira.^{1, 19, 22}

A Hb S é caracterizada bioquimicamente pela substituição do ácido glutâmico pela valina na posição número 6 da cadeia beta, produzindo perda de duas cargas negativas por molécula de hemoglobina.⁴ Essa substituição tem como consequência final a polimerização das moléculas dessa hemoglobina anormal (Hb S) quando desoxigenadas. Apenas com a desoxigenação, o crescimento de polímeros é suficiente para causar distorção celular. A presença de hemoglobina polimerizada em saturação de oxigênio arterial sugere que a reologia normal não está restrita ao lado capilar e venoso da circulação. A falcização dos eritrócitos contendo Hb S é induzida pelas mesmas perturbações físico-químicas com as das responsáveis pela gelificação das soluções de Hb S. No entanto, estudos têm demonstrado que a hemoglobina S na conformação oxi é isomorfa à hemoglobina normal, sugerindo que a estrutura das duas moléculas (exceto pela substituição do amino-ácido) é similar. A polimerização da desoxi-hemoglobina S depende de numerosas variáveis, como concentração de oxigênio, pH, concentração de hemoglobina S, temperatura, pressão, força iônica e presença de hemoglobinas normais¹³.

A polimerização da hemoglobina S é o evento fundamental na patogenia da anemia falciforme, resultando na alteração da forma do eritrócito (hemácias falcizadas) e na acentuada redução de sua deformabilidade, sendo essas células responsáveis pela oclusão vascular e lesão de tecidos que representam os principais eventos clínicos dessa patologia.^{7, 8, 25} A deposição do grande número de hemácias alteradas na superfície endotelial reduz a luz dos capilares e a estase é inevitável, que pode ser ainda aumentada pela vasoconstrição causada pela diminuição da temperatura ambiente. A consequência maléfica de estase é a hipoxia tecidual, que levaria mais moléculas de Hb S ao estado desoxi, exarcebando uma situação circulatória já desfavorável e lesando os tecidos perfundidos por esses capilares.^{13, 18}

De 5 a 50% das células do indivíduo com anemia falciforme são permanentemente estabilizadas em sua forma anormal em meia lua ou oval. Essas células não assumem a forma normal mesmo com oxigenação vigorosa, são conhecidas por células irreversivelmente falciformes (CIF). A microscopia eletrônica por transmissão, documenta a ausência de polímeros de hemoglobina quando oxigenada. Já na microscopia de luz, elas aparecem como células alongadas ou assimétricas que não possuem as delicadas espículas de células falciformes desoxigenadas. Seu volume celular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média refletem um estado desidratado e encolhido. A base físico-química para as alterações irreversíveis da membrana tem sido foco de intensa pesquisa.¹³

As Hb S sofrem uma pronunciada redução em solubilidade e um aumento na viscosidade quando desoxigenada, o equilíbrio da mesma entre as suas fases líquida e sólida é determinada por quatro variáveis: tensão de oxigênio, concentração de Hb S, temperatura e outras hemoglobinas S.¹³

A anemia falciforme (AF) corresponde à homozigose para o gene β^s , em geral resultante da herança de um gene anormal do pai e um da mãe e corresponde à forma mais grave das síndromes falciforme. Na anemia falciforme há ausência de HbA, predominando a produção de HbS acompanhada de quantidades normais de Hb A₂ (<2.5%) e aumento de Hb F (em geral, inferior a 8%, mas atingindo até 25% em algumas formas especiais). Os indivíduos heterozigotos para hemoglobinopatia S não apresentam nenhuma anormalidade hematológica.^{11, 13, 23}

O indivíduo com traço falcêmico possui em torno de 40% de Hb S e 60% de Hb A, e como esta última tem a capacidade de inibir a polimerização, a morbidade é praticamente nula, raramente está associado a manifestações clínicas ou hematológicas

de significados. O crescimento e desenvolvimento procedem normalmente, as infecções não ocorrem com maior frequência que na população geral e não se observou nenhum aumento na frequência de doença dos ossos e articulações.^{3, 13, 21}

Duas complicações do traço estão bem documentadas, mas relativamente raras: hematúria, geralmente é transitória e provavelmente está relacionada à perfusão insuficiente das papilas renais; e infarto esplênico. Também foi descrita necrose ostentiva das papilas renais.^{13, 15, 16}

Estima-se que no mundo todo existam 30 milhões de heterozigotos AS, e no Brasil este número provavelmente situa-se próximo de 2 milhões.

Na anemia falciforme, vários agentes têm sido experimentados para impedir o afoiçamento eritrocitário responsável por todas as características clinico-patológicas dos enfermos.^{13, 15, 16, 18} Tem-se tentado a manutenção de um pH alcalino, aumento da tensão do oxigênio e estabilização da membrana eritrocitária.¹⁶ Medidas de hidratação e analgesia são usados na dactilite (síndrome de mão-pé), com especial atenção para o diagnóstico diferencial com a osteomielite. O acetaminofen seria primeira escolha, pois a aspirina poderá piorar uma acidose pré-existente. Transfusões sanguíneas e a enxangüneo-transfusão são indicadas na síndrome de seqüestração esplênica. A esplenectomia, quando as crises hemolíticas e as síndromes de seqüestração esplênica estão instaladas, é uma medida que deve ser rigorosamente avaliada quanto ao risco-benefício.¹⁶

As úlceras de pernas são bastante resistentes a qualquer tratamento e costumam recidivar. Para esses casos usa-se sulfato de zinco e aconselha-se repouso com elevação do membro afetado.^{13, 16}

As dores abdominais na sua maior frequência estão ligadas a microinfartos mesentéricos e infartos esplênicos e conseqüência de coleletíase. Se os sintomas de cálculos biliares forem evidenciados, aconselha-se a colosistectomia.¹⁵

Quando pacientes falcêmicos apresentam infecções agudas e repetidas usa-se a antibioticoterapia, transfusões de concentrados de hemácia e oxigenoterapia.⁸

A hemoglobina C é o segundo tipo mais frequente de hemoglobinas anormais no Brasil. É caracterizada bioquimicamente pela substituição do ácido glutâmico pela lisina na 6 posição da cadeia beta.^{8, 18}

Talassemias

As síndromes talassêmicas constituem um grupo heterogêneo de entidades cuja patogenia, fisiopatologia e clínica apresentam peculiaridades que se distinguem entre si.
15. 18

As talassemias são originadas de mutações, afetando os genes reguladores, promovendo desequilíbrio do conteúdo quantitativo das cadeias e, conseqüentemente, dos tipos normais de hemoglobinas.^{15. 18. 25}

As principais formas dessa doença hereditária são as talassemias alfa e beta. As primeiras apresentam duas formas: a forma grave, que produz um quadro hematológico típico dos portadores heterozigotos, conhecida como talassemia alfa-zero (α^0 -tal), caracterizada pela ausência completa de cadeia alfa.^{13. 15. 18} A forma simples, caracterizada por ausência parcial de cadeia alfa, é representada como alfa mais talassemia (α^1 -tal).¹⁸

A síndrome talassêmica mais grave é a doença da Hb Bart's e determina a hidropsia fetal. O portador dessa patologia não sintetiza nenhuma cadeia alfa e possui praticamente 100% de Hb Bart's (γ_4). Esta síndrome é incompatível com a vida, tendo o indivíduo morte intra-uterina em praticamente todos os casos. É caracterizada laboratorialmente por graves alterações hematológicas visíveis no esfregaço de sangue, acentuada hipocromia, anisocitose, poiquilocitose, intensa reticulocitose e presença de uma grande quantidade de eritroblastos periféricos, especialmente orto e policromáticos.
13. 18

A doença da Hb H é também expressada pelo gene alfa e resulta em síntese parcial de cadeia alfa, formando tetrâmeros de cadeias beta (β_4).¹⁸

A hemoglobina Constant Spring gera uma desordem talassêmica que tem alteração do códon terminal da cadeia alfa. Esse fenótipo talassêmico é razoavelmente encontrado em países do sudeste asiático. As beta-talassemias apresentam-se mais heterogêneas que as alfa e caracterizam-se pela redução da cadeias beta formadoras da hemoglobina. São classificadas como beta-zero (β^0 -tal), quando não são sintetizadas, e talassemia beta-maior (β^1 -tal), quando há redução da taxa de síntese de cadeia. Nesses casos, as cadeias alfa são sintetizadas normalmente e acumulam nos eritrócitos durante a eritropoiese, causando sua agregação e precipitação.¹⁸

As talassemias β^0 e β^1 homozigotas em suas formas mais graves apresentam uma redução acentuada na produção de suas cadeias, gerando um quadro clínico

característico: anemias hipocrômicas e microcíticas graves. Isso acontece devido à hemólise que ocorre na medula óssea e no baço. Nesses casos o diagnóstico precoce é fundamental. São freqüentes infecções ou falhas cardíacas devido à deposição de ferro no miocárdio e vasos sanguíneos. As transfusões sanguíneas e a destruição prematura dos eritrócitos são responsáveis pelo acúmulo de ferro no organismo. A deferoxamina é utilizada para retirar o excesso de ferro nesses eventos.^{8, 15, 18}

Nas talassemias β^0 e β^1 heterozigotas a redução na taxa de síntese de cadeia beta é menor, o que causa leve anemia microcítica e hipocrômica. São conhecidas como talassemia menor e caracterizam-se pelo aumento de Hb A₂.¹⁸

A persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHIF) é um tipo de talassemia que se caracteriza pela presença de hemoglobina fetal em freqüência elevada na vida adulta.¹⁹

OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a frequência de hemoglobinas anormais em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubriand.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas 322 amostras de sangue de cordão umbilical. Para cada amostra, foi colhido, aproximadamente, 5 ml de sangue de segmento de 15 a 20 cm de cordão umbilical após ser ligado e seccionado pelo obstetra em seguida ao parto (vaginal ou cesariana). O segmento do cordão umbilical com as dimensões mencionadas foi suspenso pelas extremidades com a ajuda de pinças de Kelly. O sangue contido nesse segmento de cordão foi introduzido de imediato, por gotejamento, com o afrouxamento da pinça da extremidade inferior, sem ordenha, em um tubo de ensaio contendo EDTA a 5%. As amostras sequenciais obtidas dessa forma foram encaminhadas ao laboratório Clementino Fraga, onde foram submetidas a análise pela técnica de cromatografia líquida de alta precisão (HPLC). Também foi realizado hemograma completo das mesmas no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará, por um contador de células marca CELM modelo 550CE, com revisão de lâminas.

Foi aplicado um questionário previamente elaborado contendo informações como cor, estado civil, idade, endereço, escolaridade, procedência e parâmetros clínicos sobre as mães e informações referente ao parto e aos recém-nascidos.

A avaliação estatística foi realizada através do programa SSPS.

RESULTADOS

A ficha-questionário (anexo) com identificação, procedência, cor, estado civil, parâmetros clínicos, documenta várias características da mãe e também características e intercorrências dos recém-nascidos. Das 322 amostras analisadas encontramos 307 (95.34%) Hb AA e 15 (4.66%) de hemoglobinas anormais (tabela I).

O percentual das hemoglobinas AA, AS e AC estão relacionados na tabela II e apresentam-se respectivamente: 95.34%, 4.04% e 0.62%.

A tabela III apresenta o perfil das hemoglobinas anormais(N=15): 13 (86.7%) AS e 2 (13.3%) AC.

A tabela IV mostra a distribuição dos recém-nascidos(N=322) de acordo com a procedência, sendo 255 (79.2%) da capital cearense, 65 (20.2%) do interior e 2 (0.6%) de outros estados brasileiros

A tabela V apresenta a distribuição das hemoglobinopatias em relação ao sexo dos recém-nascidos estudados. Dentre as ocorrências de hemoglobina AS, 84.6% foram do sexo masculino e 13.4% do sexo feminino. Já as hemoglobinas AC ocorreram 100% em sexo feminino.

Os pesos dos recém-nascidos situam-se entre 1,050 a 5,580kg com predomínio da faixa entre 2,870 a 3,770 kg (tabela VI).

A tabela VII representa o percentual das médias cromatográficas de todos os recém-nascidos(N=322) em nosso estudo com os seguintes valores: AA (16.15%), Fetal (70.50%), Fast (9.88%), Desc.1 (2.28%), Desc.2 (0.81%), Desc.3 (0.07%)

O gráfico I representa os tipos de hemoglobinas: normal e anormal; o gráfico II, os tipos de hemoglobinas AA, AS e AC; o gráfico III, o perfil apenas das hemoglobinas anormais; gráfico IV mostra a procedência; o gráfico V, os tipos de hemoglobinopatias de acordo com o sexo; o gráfico VI apresenta o perfil cromatográfico das hemoglobinas desconhecidas; o gráfico VII, o perfil cromatográfico das hemoglobinas fetal e AA e o gráfico VIII, o perfil das médias cromatográficas dos portadores de hemoglobinopatias.

QUESTIONÁRIO

Nº _____

PROTOCOLO DE PESQUISA DE HEMOGLOBINOPATIAS

Data: _____

DADOS DA MÃE:

Nome: _____ Prontuário: _____
 Endereço: _____ Telefone: _____
 Procedência: _____ Idade: _____
 Paridade: _____ Escolaridade: _____
 Data da última regra: _____ Idade gestacional: _____
 Idade gestacional pelo capurro (Essencial se a DUM for desconhecida): _____

Cor: Negra () Parda () Branca ()
 Estado Civil: Solteira () Casada () Separada () Viúva ()
 Realizou pré-natal? Não () Sim () Nº de consultas: _____
 Paciente é tabagista? Não () Sim ()
 Paciente é alcoolista? Não () Sim ()

Faz uso de algum medicamento? Não () Sim () Qual? _____
 (inclusive durante a gravidez)
 Portadora de doença crônica? Não () Sim () Qual? _____

Intercorrências durante a gestação:

DHEFG

Trabalho de parto prematuro	Não ()	Sim ()
Infeção urinária	Não ()	Sim ()
Cardiopatia	Não ()	Sim ()
Pré-eclâmpsia/Eclâmpsia	Não ()	Sim ()
Sangramentos intercorrentes	Não ()	Sim ()
Rotura precoce de membranas	Não ()	Sim ()
Hiperêmese	Não ()	Sim ()
Diabetes gestacional	Não ()	Sim ()
DST	Não ()	Sim ()
Isoimunização	Não ()	Sim ()
Amniorrexe prematura		
Outras () Qual? _____	Não ()	Sim ()

Tipo de parto: Natural () Cesariana () Natural com Fórceps () Natural-Pélvico ()

DADOS DO RECÉM-NASCIDO

Sexo: M () F ()
 Cor: Negra () Parda () Branca ()
 Peso: _____ Estatura: _____
 Apgar - 1 min: _____
 Apgar - 5 min: _____
 PIG () AIG () GIG ()
 Alterações físicas do recém-nascido:
 Icterícia Não () Sim ()
 Hidropisia fetal Não () Sim ()
 Dactilias Não () Sim ()
 Fissura labial/palatino Não () Sim ()
 Outras () Quais? _____

Tabelas

Hemoglobinas	Recém-nascidos	
	N	%
NORMAL	307	95,34
ANORMAL	15	4,66
TOTAL	322	100,00

Tabela I – Distribuição dos recém-nascidos de acordo com o tipo de hemoglobina: normal ou anormal.

Hemoglobinas	Recém-nascidos	
	N	%
HB AA	307	95,34
HB AS	13	4,02
HB AC	02	0,62
TOTAL	322	100,00

Tabela II – Distribuição dos recém-nascidos de acordo com o tipo de hemoglobina AA, AS e AC.

Hemoglobinas Anormais	Recém-nascidos	
	N	%
Hb AS	13	86,7
Hb AC	02	13,3
TOTAL	15	100,00

Tabela III – Distribuição das hemoglobinas anormais nos recém-nascidos em estudo.

Procedência	Recém-nascidos	
	N	%
CAPITAL	255	79,2
INTERIOR	65	20,2
OUTROS ESTADOS	02	0,6
TOTAL	322	100,00

Tabela IV – Distribuição dos recém-nascidos estudados de acordo com a procedência.

Sexo do recém-nascido	Hb AS	%	Hb AC	%
	(n)		(n)	
FEMININO	02	13,4	02	100
MASCULINO	11	84,6	00	00
TOTAL	13	100	02	100

Tabela V – Distribuição de hemoglobinas anormais em relação ao sexo dos recém-nascidos.

Faixa de Peso (Kg)	Tipos de hemoglobina		Total (N)
	Normal (n)	Anormal (n)	
1,05-1,95	08	02	10
1,96-2,86	59	03	62
2,87-3,77	109	09	208
3,78-4,67	38	01	39
4,68-5,58	03	00	03

Tabela VI – Distribuição dos recém-nascidos de acordo com o tipo de hemoglobinas e faixa e peso.

Frações da Hemoglobina	%
N=322	
F	70,5
AA	16,15
Fast	9,88
Desc1	2,28
Desc2	0,81
Desc3	0,07

Tabela VII – Distribuição representativa das médias cromatográficas das hemoglobinas AA, Fetal e Desconhecidas.

Gráficos

Gráfico I – Distribuição dos recém-nascidos de acordo com o tipo de hemoglobina normal ou anormal (N=322).

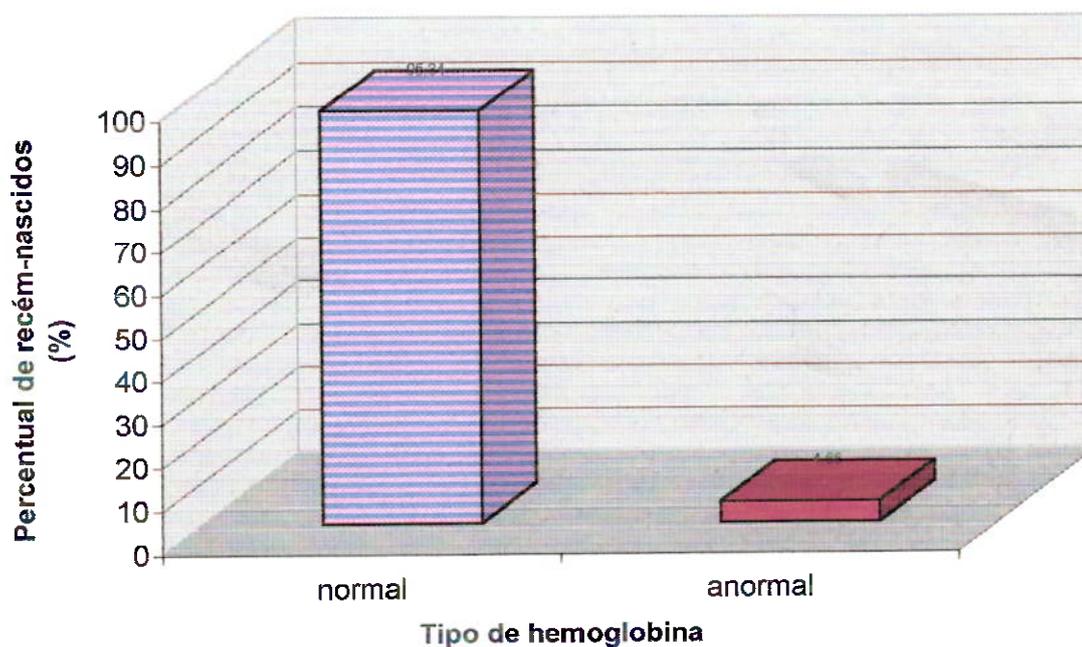


Gráfico II – Distribuição dos recém-nascidos de acordo com o tipo de hemoglobina AA, AS e AC (N=322).

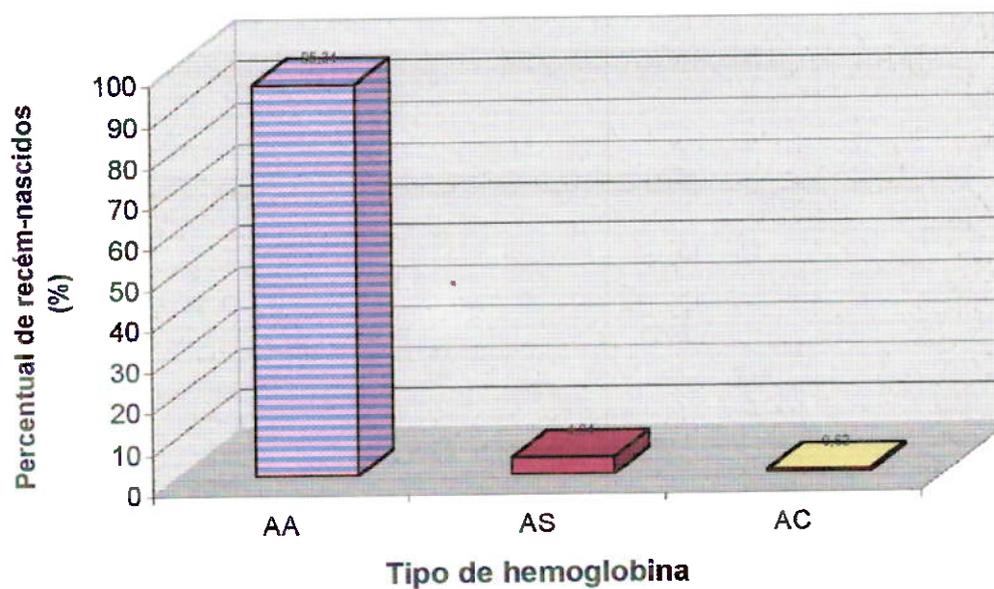


Gráfico III – Distribuição das hemoglobinas anormais nos recém-nascidos em estudo (N=322).

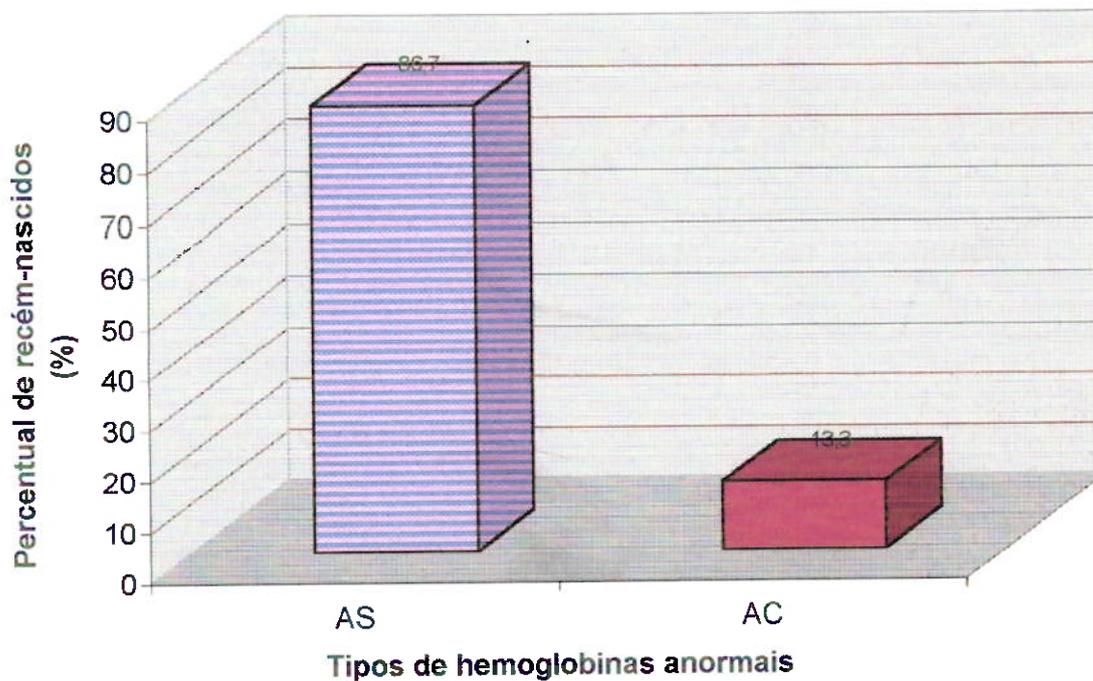


Gráfico IV – Distribuição de recém-nascidos estudados de acordo com a procedência (N=322).

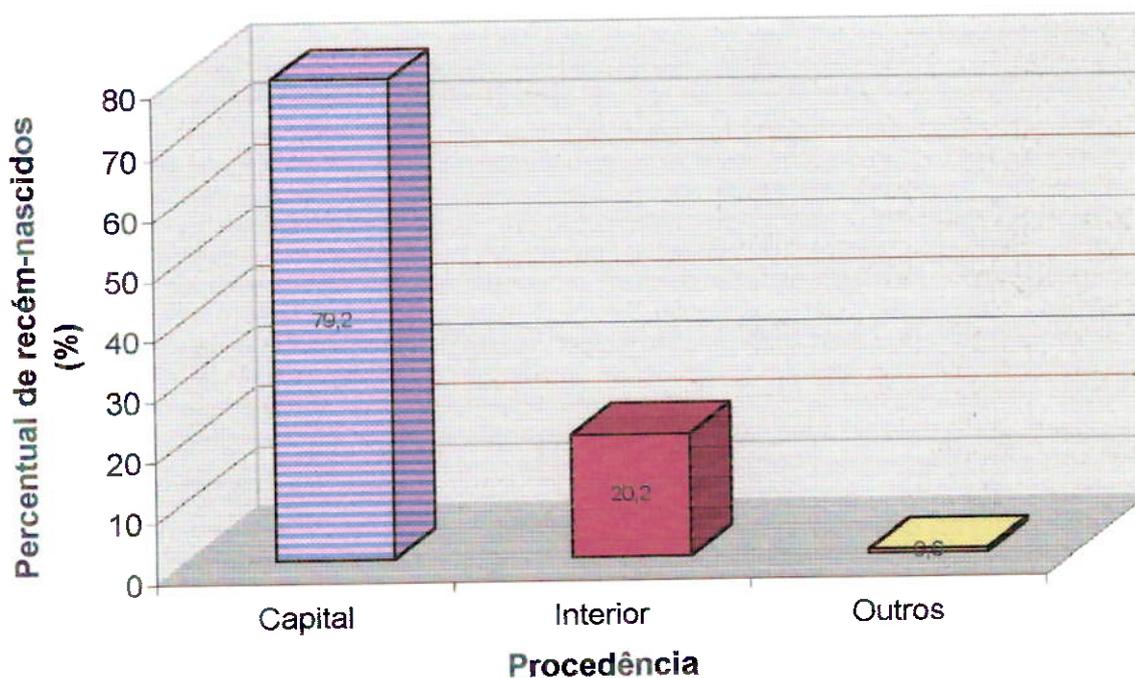


Gráfico V – Distribuição de hemoglobinopatias em relação ao sexo dos recém-nascidos (N=15).

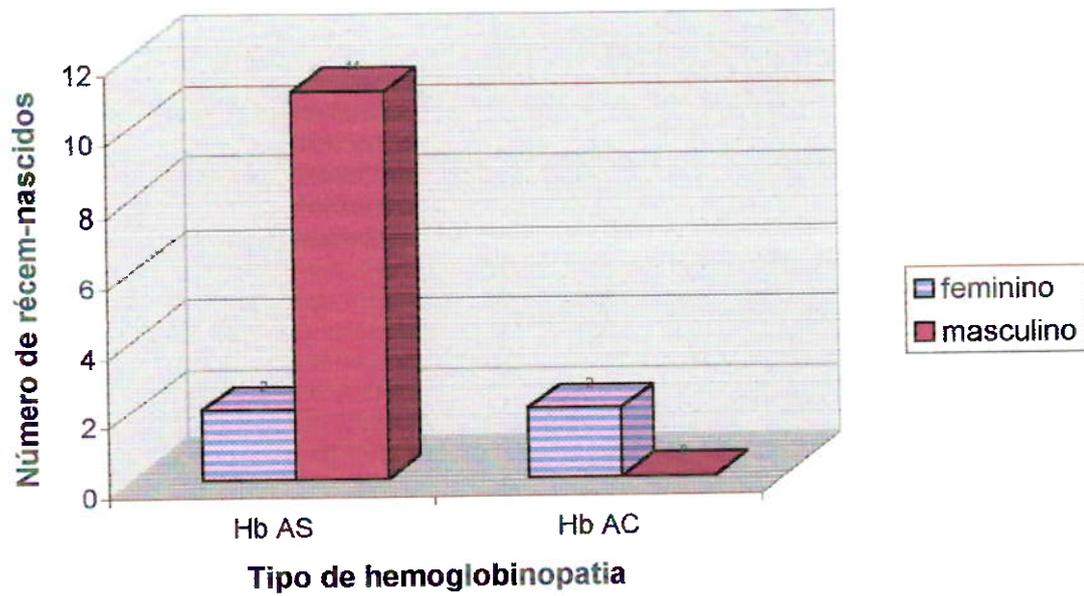


Gráfico VI – Perfil cromatográfico dos recém-nascidos em relação às hemoglobinas desconhecidas (N=322).

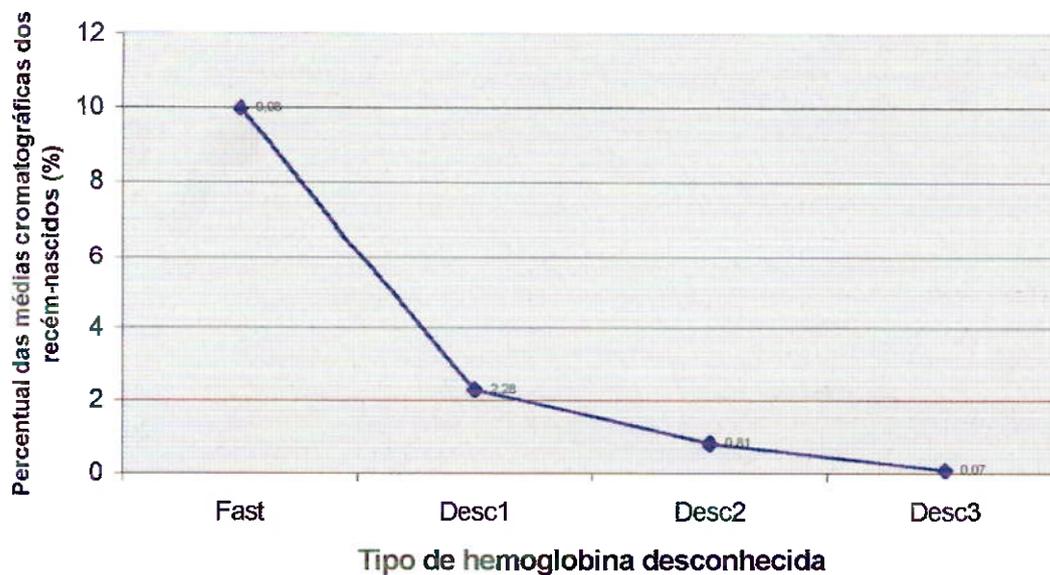


Gráfico VII – Perfil cromatográfico dos recém-nascidos em relação às hemoglobinas AA e Fetal (N=322).

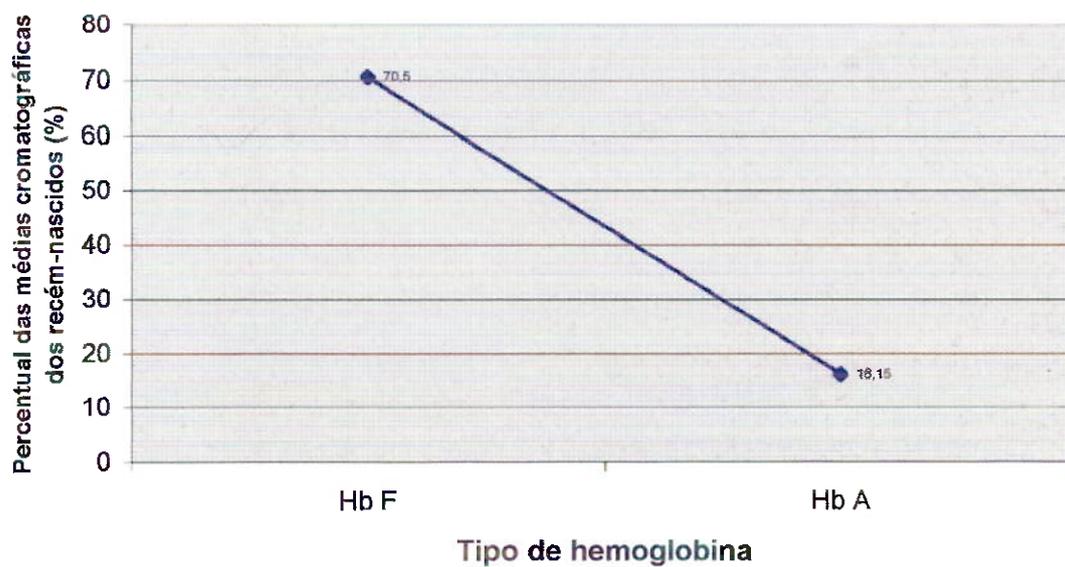
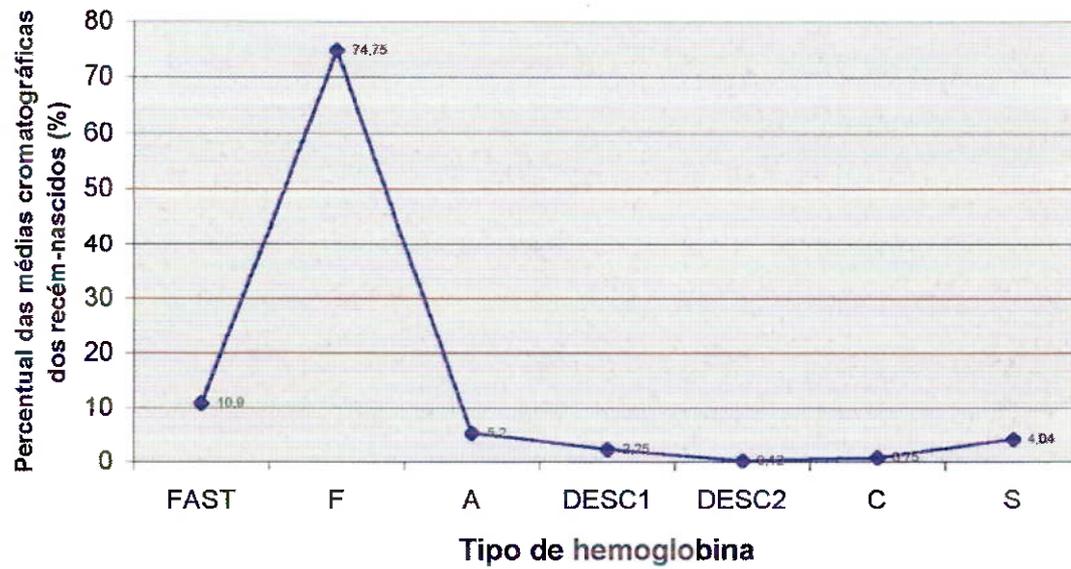


Gráfico VIII – Perfil cromatográfico dos recém-nascidos portadores de hemoglobinas anormais (N=15).



DISCUSSÃO

O conhecimento da frequência de hemoglobinopatias em uma população, visto seu significado clínico-patológico, é de grande valia para o serviço de saúde. No Brasil, a pesquisa e o conhecimento das variações das hemoglobinas apresenta sua importância, visto que, os genes causadores dessas anormalidades foram dispersos paulatinamente no processo de miscigenação racial.

Pesquisas abordando o estudo das hemoglobinopatias vêm ganhando espaço em vários centros de saúde e atraindo muitos pesquisadores em nosso país.

SANTOS, M. M. S. e col. (1987) demonstraram uma frequência de 4,23% de hemoglobinas anormais em 260 crianças, negróides e caucasóides na faixa etária de 6 meses a 7 anos detectaram, sendo AS (3,46%) e AC (0,77%) em pesquisa realizada nas creches São Gabriel e Tia Julia na cidade de Fortaleza.

LEAL, M. C. e col. (1997) demonstraram uma frequência 5,4% de hemoglobina anormais em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos, sendo AS (5,2%) e AC (0,2%), no Instituto Materno-Infantil de Pernambuco. Também em Pernambuco, DINIZ, M. V. (1999) pesquisando hemoglobinopatias em sangue de cordão umbilical no hospital Agamenon Magalhães detectou numa amostra (N=214) o seguinte percentual de hemoglobinas anormais: 03 (1,4%) Hb S e 02 (0,98%) portadores do traço para Hb C.

PANTELEÃO, S. M. e col. (1993) triando hemoglobinas anormais em recém-nascidos oriundos da zona urbana de João Pessoa - PB detectaram: Hb S = 0,0010% e Hb C = 0,005%.

BONINI-DOMINGOS, C. R. e col. (2000) pesquisando Hb S pelo método HPLC detectou o seguinte perfil de hemoglobina S e hemoglobina C, respectivamente: 13,78% (AS) e 3,03% (SC), em São José do Rio Preto (SP).

MELO, S. M. A. e col. (2001) pesquisando hemoglobinopatias em recém-nascidos detectaram numa amostra (N=36.959) 16 (0,04%) portadores da doença falciforme, 983 (2,7%) de traço para Hb S na cidade de Uberlândia - MG.

Os nossos resultados indicam uma prevalência de 4,66% de hemoglobinas anormais, sendo AS (4,04%) e AC (0,62%), em sangue de cordão umbilical na Maternidade-Escola Assis Cheautubreand.

Em vários estudos realizados, em diversas regiões brasileiras, notamos que a frequência de hemoglobinas anormais (AS, AD e AC) variam entre 2 a 14% , independente da população analisada. Comparando o nosso trabalho com o de SANTOS, M. M. S. e col. (1987) realizado em Fortaleza, CE, percebemos que existe uma semelhança de resultados, o total de Hb variantes permaneceu em 4% e com uma prevalência da Hb AS. Levando-se em consideração os demais trabalhos desenvolvidos em Minas Gerais, São Paulo e na região nordeste (Pernambuco, João Pessoa), percebemos que a Hb AS possui uma prevalência muito variável chegando a 13,78% (BONINI-DOMINGOS, C. R. e col. (2000), podemos explicar essa diferença com base na presença da raça negra, bastante comum nestes estados, fato que pode ser verdadeiro também para o município de São José do Rio Preto onde a prevalência de Hb AS é relativamente elevada.

O nosso estudo revela que a presença de hemoglobinopatias no Ceará, tem uma prevalência relativamente baixa em relação a outras localidades no Brasil. Percebemos que o traço falcêmico prevalece em comparação às hemoglobinas C e D, não só em recém-nascidos como também em população do distrito V de Fortaleza (BRAGA, WM, S. Pesquisa de hemoglobinas anormais na população do distrito V de Fortaleza, 1993)

As médias para Hb F e Hb A, na população em estudo foram respectivamente de 70,50% e 16,15% estando portanto dentro dos valores referidos na literatura.

Detectamos um percentual pequeno de frações hemoglobínicas desconhecidas denominadas de FAST, DES1, DES2 e DES3, para o programa HPLC. Essas frações nos recém-nascidos normais não diferiram substancialmente das frações desconhecidas dos recém-nascidos portadores de hemoglobinopatias. As mesmas não tem significado clínico.

Em nosso estudo, os recém-nascidos portadores de traço falciforme (N=13) foram predominantemente do sexo masculino (N=12), enquanto os portadores do traço para hemoglobina C (N=02) foram totalmente do sexo feminino.

Em relação à procedência dos recém-nascidos em estudo, já era esperado que a imensa maioria pertencesse a capital cearense, visto que o estudo foi realizado na Maternidade-Escola Assis Chateaubreand, em Fortaleza.

Visto os fatores clínicos e patológicos das hemoglobinopatias e também as frações encontradas em algumas pesquisas em diversas regiões do país e comparando estes resultados com os do nosso trabalho, sugerimos uma triagem neonatal e um aconselhamento genético. os de LEAL, M. C. e col. (1997) e DINIZ, M. V. (1999) no mesmo hemocentro

CONCLUSÃO

I – A frequência de hemoglobinas anormais em sangue de cordão umbilical em recém-nascidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubreand foi de 4,66%.

II – A frequência das hemoglobinopatias anormais(N=15) foi maior de Hb AS (86,7%), seguidas de Hb AC (13,3%).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, J. T. Hemoglobinas anormais em São Paulo (Métodos de estudo, incidência). *J. Bras. Med.* V.9, nº 11, p. 1264, 1964.
2. ARAÚJO, J. T., JAMRA, M. Hemoglobinas Anômalas. *Rev. Hosp. Clin.* v.17.nº 4, p.241-242, Jul-Ago, 1962.
3. AZEVEDO, E. S. Genética e Saúde Pública no Brasil. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, vol.8, p.307-310, 1975.
4. BARNHART, M. I., HENRY, R. L., LUSHER, S. M. Sickle cell. U.S.A.: Scope, 1976.
5. BONINI-DOMINGOS, C. R., HIDALGO, C., CANALLE, A. A., VASQUES, M. T., ZAMARO, P. J. A. Hemoglobina "S" obtida por HPLC em uma amostra de população brasileira. Série de monografias da Escola Brasileira de Hematologia, Fortaleza, 2001. V.8, p.59.
6. BRAGA, V. M. S., Pesquisa de Hemoglobinas anormais na população do Distrito V de Fortaleza. Trabalho apresentado como requisito final ao curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia. HEMOCE. UFC. MEC. BID VII. Fortaleza - Ce. p. 67. 1993.
7. CAVALCANTI, JÚNIOR, G. B. et al. Estudo de uma família portadora de hemoglobina S*. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, v.19, nº 4, p.77-80,1987.
8. COMPANHIA, Equipadora de Laboratórios Modernos – CELM. Eletroforese em Agarose para pesquisa de hemoglobinopatias. São Paulo, 1999.
9. DINIZ, M. V. Prevalência de hemoglobina "S" em recém-nascido. Série de monografias da Escola Brasileira de Hematologia, Fortaleza, 2001. V.8, p.56.
10. GUYTON, A. C. Tratado de Fisiologia Médica. 8ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.312-316, 1998.
11. IBARRA, H. G. et al. Programa de prevencion de la anemia por hematies falciformes en ciudade de Habana. *Rev. Cub. Ped.*, v. 6, nº 58, p. 679-683,1986.

12. LEAL, M. C., SOUZA, R. R., FURTADO, V. C. Prevalência de hemoglobina "S" em recém-nascidos no Instituto Materno-Infantil de Pernambuco. Recife: HEMOPE, 1997.
13. LUKENS, J. N. Hemoglobinopatias S, C, D, E & O e doenças associadas. In: LEE, G. R. et. al. Wintrobe Hematologia Clínica. São Paulo: Manole, 1998, v. 1, pt. 38, cap. 38, p. 1162-1193.
14. MARENGO-ROWE, A. J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *J. Clin. Pathol.*, v. 18, p.790-792, 1965.
15. MARINHO, H. M. Hematologia. São Paulo. Ed. Sarvier, 1983. p.37-61.
16. MARINHO, H. M. & PEREIRA, J. M. Hematologia In: Hemoglobinopatias, MARINHO, H. M. São Paulo. Ed. Sarvier, cap. 5, 1984, p. 37-38, 328.
17. MELO, S. M. A., ROCHA, A. F. S., ARANTES, S. C. F., OLIVEIRA, S. A., BOTELHO, A. F., JANUÁRIO, J. N. Doenças Falciformes – Prevenção e Aconselhamento Genético na Triagem Neo-natal. Série de monografias da Escola Brasileira de Hematologia, Fortaleza. 2001. V.8, p.55.
18. NAOUM, P. C. Diagnóstico das Hemoglobinopatias. São Paulo, Ed. Sarvier, 1987, p. 9, 13-15, 35-45.
19. NAOUM, P. C. Anemias imigrantes: a origem das anemias hereditárias no Brasil. *Cienc. Hoje*, v. 3, n. 14, p.56-64, 1984.
20. NAOUM, P. C. Diagnóstico Laboratorial das Hemoglobinopatias. *Rev. Bras. Patol. Clin.* v. 18, p. 12-20, 1982.
21. NAOUM, P. C. CARLOS DE MATTOS, L. CHALELA, C. R. VEZONO, M. M. Manual Técnico para detecção das Hemoglobinopatias freqüentes. *Rev. Bras. Patol. Clin.* v.18, p. 155-162, 1982.
22. NAOUM, P. C., FIRMINO, A. F., FENARI, F. MOREIRA, H. W. SAMPAIO, Z. A. Hemoglobinas anormais no Brasil: Prevalência e distribuição geográfica. *Rev. Bras. Patol. Clin.* v. 23, nº 3, p.68-79, 1987.

23. ORLANDO, G. M., NAOUM, P. C., SIQUEIRA, F. A. M. Diagnóstico Laboratorial das Hemoglobinopatias. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 22, n.2, p. 111-121, 2000.
24. PANTALEÃO, S. M., MEDEIROS, F., JOÃO, G., HENRIQUE, G. Triagem de hemoglôbinopatias em recém-nascidos de João Pessoa – PB. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, v.29, p.8-13, 1993.
25. RAMALHO, A. S. A talassemia menor como causa de anemia no estado de São Paulo. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, v.22, p.32-38, 1986.
26. RAMALHO, A. S. Unidade de hemoglobinopatias hereditárias. *Atualidades médicas*, v.13, p. 11-20, 1978.
27. ROTHSTEIN, G. Origem e desenvolvimento do sangue e dos tecidos que formam o sangue. In: LEE, G. R. et. al. Wintrobe Hematologia Clínica. São Paulo: Manole, 1998, v. 1, pt. 2, cap. 3, p.45-78.
28. SANTOS, M. M. S., Hemoglobinopatias na Infância - Inquérito epidemiológico em creches da cidade de Fortaleza-CE. Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia e Hematologia-Convênio UFC-MEC-BID III Fortaleza - Ce. p.12. 1987
29. TEIXEIRA, R. C. , RAMALHO, A. S. Genetics and public health: response of a Brazilian population to na optional hemoglobinopathy program. *Rev. Bras. Genet.*, v. 17, n. 4, p. 435-438, 1994.
30. TELEN, M. S. O eritrócito maduro. In: LEE, G. R. et. al. Wintrobe Hematologia Clínica. São Paulo: Manole, 1998, v. 1, pt. 2, cap. 3, p. 115-122.
31. ZAGO, M. A., COSTA, F. F. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. *Trans. R. Soc. Med. Hyg.*, v.79, p.385-388, 1985.