

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**

**HEMOGLOBINOPATIAS EM DOADORES DE SANGUE DO
CENTRO DE HEMOTERAPIA DE SERGIPE (HEMOSE)**

**WANESSA LORDÊLO PEDREIRA VIVAS
ORIENTADORA: Dr^a. ROSANA CIPOLOTTI**

**ARACAJU-SE
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

HEMOGLOBINOPATIAS EM DOADORES DE SANGUE DO CENTRO DE HEMOTERAPIA DE SERGIPE (HEMOSE)

WANESSA LORDÊLO PEDREIRA VIVAS

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe como um dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dr^a. Rosana Cipolotti

1º examinador: Dr. Ivan Lucena Ângulo

2º examinador: Dr^a. Ângela Maria da Silva

“De tudo ficaram três coisas: a certeza de que se está começando, a certeza de que era preciso continuar e a certeza de que seríamos interrompidos antes de terminar. Fazer da interrupção um caminho novo, fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sono uma ponte, da procura um encontro”.

Fernando Sabino

*Ao meu filho João Paulo,
razão da minha vida.*

AGRADEÇO,

A Deus, por nos ter dado a oportunidade de estarmos aqui.

À minha orientadora, Prof^a.Dr^a. Rosana Cipolotti, pela iniciativa de criar a linha de pesquisa da qual tive a oportunidade de aprofundar meus conhecimentos sobre hemoglobinopatias. Obrigada pela orientação, ensinamentos, compreensão e confiança na realização do nosso trabalho.

Ao Centro de Hemoterapia de Sergipe (HEMOSE), todos os funcionários que participaram ativamente para a realização deste trabalho, em especial a Dr^a. Acácia Cardoso, coordenadora do CTP, pelo apoio constante durante toda a realização desta pesquisa e à todos doadores que aceitaram participar da nossa pesquisa através da sua doação sanguínea.

Ao Laboratório Central de Biomedicina da UNIT, em especial ao Diretor Dr^o Hesmoney Santa Rosa pela compreensão à minha ausência no laboratório e por facilitar a realização da minha pesquisa.

A todos os meus queridos colegas do Laboratório Central: Caparran, Márcio, Sandra, Raquel, Ana Guedes, Ediuza, Rose, Nil, Ana Paula, Josias, por facilitarem minha rotina enquanto eu estava ausente.

Aos colegas da Pós-graduação pelos momentos agradáveis que passamos e pelas trocas de informações durante o curso, em especial à amiga Plácia Góis.

A Danilo Rebouças, colega que foi de grande ajuda para que esse trabalho pudesse ser realizado, atuando de forma dedicada, sempre se colocando a disposição para o andamento da pesquisa.

A Dr^o Celso Morato de Carvalho e a Dr^a Jeane Carvalho Vilar pela fundamental participação nesse trabalho através de seus conhecimentos estatísticos.

A Dr. Amaury Lelys pelo auxílio estatístico para que pudessemos iniciar a pesquisa.

À minha linda família em especial a minha mãe, exemplo de dedicação, doação e amor para comigo, em todos os momentos da minha vida e principalmente agora nessa fase tão especial em que estou; e ao meu Pai que sempre foi meu exemplo de vida, companheiro e amigo, e que com certeza, continua guiando meus caminhos com sua luz espiritual.

Aos meus queridos irmãos Ticiane, Camilo, Eduardo e Leonardo e ao meu querido Pedrinho, pelo apoio e carinho.

A Roberto, meu marido companheiro, amigo, colega e consultor que sempre me incentivou a realizar esse trabalho, compreendendo as minhas ausências e acreditando sempre em nosso sucesso. A você o meu amor e minha gratidão.

E a todas as pessoas que fizeram parte da minha vida durante o período de realização deste trabalho, e que contribuíram para o meu engrandecimento como pessoa.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1.Hemoglobinas Anormais.....	14
1.2.Hemoglobinopatias.....	15
1.2.1.Hemoglobina S	17
1.2.1.1.Alteração Molecular da Hb S	18
1.2.1.2. Polimerização das Hb S	20
1.2.1.3. Cinética da Falcização	21
1.2.1.4. Hb AS – Traço Falciforme	22
1.2.2. Hemoglobina C e D	24
1.3. Talassemia	25
1.3.1. Alfa Talassemia	26
1.3.2. Beta Talassemia	27
1.4. Distribuição Geográfica das hemoglobinopatias	28
1.5. Banco de Sangue	32
1.5.1. O Traço Falciforme e a doação de sangue	34
1.6. Técnicas de diagnóstico para hemoglobinopatias	36
1.6.1. Eritrograma	36
1.6.2. Teste de solubilidade	37
1.6.3. Teste de Falcização ou Pesquisa de drepanócitos	38
1.6.4. Eletroforese de hemoglobina Qualitativa em acetato de celulose pH 8,6 ..	40
1.6.5. Cromatografia Líquida de Alta Performance	42
1.7. Justificativa	43
1.8. Objetivos	43
2. CASUÍSTICA E METODOS	44
2.1. Característica Demográfica da População	44
2.2. População Alvo	44

2.3. Seleção Amostral	45
2.4. Desenho do Estudo	45
2.5. Cálculo da Amostra	45
2.6. Coleta da Amostra	46
2.7. Exames Realizados	46
2.8. Considerações Éticas	47
2.9. Análise Estatística	48
3. RESULTADOS	49
4. DISCUSSÃO	54
5. CONCLUSÕES	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Mutação no gene da globina beta S do cromossomo 11.....	19
FIGURA 2: Distribuição das hemoglobinopatias no Brasil	31

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1: Positividade para hemoglobinopatias entre doadores de sangue do do HEMOSE	49
---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias em relação gênero	49
TABELA 2: Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias em relação à cor da pele	50
TABELA 3: Valores, média e desvio padrão para as frações de hemoglobinas.....	50
TABELA 4: Distribuição das distribuições de freqüências dos índices hematimétricos entre indivíduos normais e com hemoglobinopatias	51
TABELA 5: Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias e a positividade no teste de solubilidade	52
TABELA 6: Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias e a positividade no teste de falcização.....	52
TABELA 7: Proporções de indivíduos com hemoglobinopatias e a positividade no teste de falcização.....	53

RESUMO

As hemoglobinopatias, também conhecidas como distúrbios hereditários da hemoglobina (Hb) humana, são doenças geneticamente determinadas e apresentam frequência significativa em várias partes do mundo. Apesar da existência de centenas de hemoglobinopatias hereditárias conhecidas, no Brasil estudos têm demonstrado que as hemoglobinas anormais S e C são as mais prevalentes. Com o objetivo de identificar o perfil das hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia do Estado de Sergipe (HEMOSE), foram analisadas 1345 amostras de doadores de sangue. Inicialmente foi realizado o eritrograma automatizado e eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose utilizando tampão Tris-EDTA-Borato pH 8,6 em todas as amostras. As amostras que apresentaram hemoglobinas anormais foram submetidas ao teste de falcização, teste de solubilidade e Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC). Foram identificadas 76 amostras com hemoglobinas anormais (5,6%), das quais 55 (4,1%) com traço falciforme (Hb AS), 19 (1,4%) com Hb AC, 01 (0,1%) com Hb AD e 01 (0,1%) sugestivo para beta-talassemia. Os resultados encontrados demonstram a necessidade de implantação da triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue, desta maneira, o receptor de sangue é beneficiado com sangue de boa qualidade e o doador com o diagnóstico de uma alteração genética que pode vir a ser prevenida em seus descendentes.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; Doadores de sangue, Hemoglobina S

ABSTRACT

The hemoglobinopathies, also known as hereditary riots of the hemoglobins (Hb) human being, are illnesses genetically determined and present significant frequency in some parts of the world. Despite the existence of hundreds of known hereditary hemoglobinopathies, in Brazil studies they have demonstrated that abnormal hemoglobins S and C are most prevalent. With the objective to identify the profile of the hemoglobinopatias in blood donors of the Center of Hemotherapy of the State of Sergipe (HEMOSE), 1345 samples of blood donors had been analyzed. Initially it was carried through the automatized eritrograma and eletrophoreses of hemoglobin in cellulose acetate using Tris-EDTA-Borato drain plug pH the 8,6 in all samples. The samples that had presented abnormal hemoglobins had been submitted to the test of sickle cell, test of solubility and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). 76 samples with abnormal hemoglobins had been identified (5,6%), of which 55 (4,1%) with sickle cell trace (Hb AS), 19 (1,4%) with Hb AC, 01 (0,1%) with AD Hb and 01 (0,1%) suggestive for beta-talassaemia. The joined results demonstrate the necessity of implantation of the selection of hemoglobinopatias in blood givers, in this way, the blood receiver is benefited with blood of good quality and the giver with the diagnosis of a genetic alteration that can come to be prevented in its descendants.

Key words: Hemoglobinopathies, Blood donors, Hemoglobin S.

1.INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias, também conhecidas como distúrbios hereditários da hemoglobina (Hb) humana são doenças geneticamente determinadas e apresentam frequência significativa em diversas partes do mundo. Milhões de pessoas trazem em seu patrimônio genético hemoglobinas anormais em várias combinações, com conseqüências que variam de quase imperceptíveis a letais. Dessa forma as anemias hereditárias compreendem um grupo de condições de grande complexidade (THOMPSON *et al*, 1993).

Apesar da existência de centenas de hemoglobinopatias hereditárias conhecidas, são três as que representam problema de saúde pública no Brasil: as hemoglobinopatias S e C e a talassemia beta. Enquanto as duas primeiras, pela sua alta frequência entre afro-descendentes, apresentam importância nacional, a talassemia beta encontra-se mais frequentemente entre os descendentes de europeus, especialmente oriundos da região do mar Mediterrâneo e mais encontrada nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (RAMALHO; MAGNA; PAIVA-E-SILVA,2003).

Dentre as hemoglobinas variantes, as mais freqüentes, a hemoglobina S (Hb S) e a hemoglobina C (Hb C), ambas de origem africana, são encontradas entre os brasileiros afro-descendentes em porcentagem de 6% e 1% respectivamente, e é também encontrada entre caucasóides, especialmente na forma heterozigótica (COMPRI *et al*, 1996).

Devido à elevada frequência de hemoglobinopatias hereditárias, foram implantados programas de investigação e controle em comunidades especialmente afetadas. Sua importância ressalta-se em nível mundial, uma vez que a criação de

programas comunitários vem sendo estimulada por vários organismos internacionais, como Organização Mundial da Saúde (WHO, 1983), a Academia de Ciências do Terceiro Mundo (TWAS, 1986) e a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 1987). Esta preocupação aparece porque na medida em que as doenças infecciosas vão sendo controladas, as hemoglobinopatias emergem como importante problema de saúde pública dos países em desenvolvimento (ACEDO *et al*, 2002).

O Comitê de Prevenção e Controle das Hemoglobinopatias da Organização Mundial de Saúde recomendou a implantação de programas de controle de hemoglobinopatias na América Latina, inclusive no Brasil (RAMALHO *et al*, 1999).

Os estudos entre doadores de sangue mostram que a prevalência do traço falciforme é maior nos Estados da Região Nordeste, porém é encontrada em todas as regiões brasileiras, e por isso, a doença falciforme (DF) é considerada uma das doenças genéticas mais importantes no cenário epidemiológico brasileiro (PAIVA-E-SILVA; RAMALHO; CASSORLA, 1993).

O problema da doação de sangue por brasileiros portadores de hemoglobinopatias como o traço falciforme começou a ser discutido desde a década de 70. Nessa época trabalhos sugeriram que a investigação de hemoglobinas anormais como a Hemoglobinopatia AS (*traço falciforme*) começasse a ser realizada nos serviços brasileiros de hemoterapias (RAMALHO, 1976).

De acordo com a RDC (Resolução da Diretoria Colegiada) 343, de 13 de dezembro de 2002, “todo sangue a ser coletado, processado e transfundido, deve apresentar boa qualidade, não podendo ser, portanto, veículo de propagação de patologias”; cita a resolução. Esta norma recomenda também que seja realizada a detecção de Hb S em doadores de sangue. A legislação atual que regulamenta

hemoterapia brasileira, a RDC 153 de 14 de junho de 2004, no anexo I, no item E.3 – “Detecção de hemoglobinas Anormais” obriga a investigação de outras hemoglobinas anormais no sangue de todos os doadores. No entanto não determina o descarte das bolsas de sangue que contêm Hb S, simplesmente proíbe a transfusão destes componentes em pacientes com hemoglobinopatias, recém-nascido, pacientes com acidose grave e em transfusão intra-uterina (M. SAÚDE, BRASIL, RDC 343,2002; BRASIL RDC 153, 2004).

Atualmente sabe-se que a transfusão de hemácias contendo hemoglobina A (Hb A) e hemoglobina S (Hb S) possui algumas contra-indicações bem específicas, como em transfusões de substituição total em recém-nascidos (sobretudo em prematuros), em pacientes com anemia falciforme em crise de falcização e em indivíduos sob hipóxia intensa (PRUDÊNCIO; COVAS; BONINI-DOMINGOS, 2000).

Os métodos utilizados para diagnóstico de hemoglobinopatias são muitos, porém a triagem é freqüentemente realizada através do eritograma e da eletroforese de hemoglobina. Técnicas mais sofisticadas incluem a focalização isoelétrica, cromatografia líquida de alta pressão e estudos moleculares. Diversos trabalhos foram desenvolvidos visando encontrar testes de rastreamento suficientemente eficazes para o correto diagnóstico das inúmeras alterações hematológicas decorrentes das hemoglobinopatias (MARENGO-ROWE, 1965; LEPP ; BLUESTEIN, 1978; ZAGO *et al* 1984; ZAGO ; PAÇÓ-LARSON, 1989; SKOGESBOE *et al.*, 1991; RIBEIRO ; ARAÚJO, 1992; FLINT *et al.*, 1993; BAYSAL ; HUISMAN, 1994; MOLTENI *et al.*, 1994; FOGLIETTA *et al.*, 1996; MOHAMMAD *et al*, 1997; GUERRA-SCHINOHARA *et al.*, 1999; LEONELI *et al.*, 2000).

Doadores que possam transmitir alguma doença através da doação devem ser diagnosticados e instruídos quanto às características das doenças e suas

implicações. Desta maneira, o receptor de sangue é beneficiado com sangue de boa qualidade e o doador com o diagnóstico de uma alteração que pode vir a ser prevenida da apresentação em homozigose em seus descendentes, através do aconselhamento genético.

1.1..Hemoglobinas Anormais

A estrutura química da hemoglobina é importante para a sua função. Existem diversas condições, de natureza genética, nas quais a hemoglobina tem alterações em sua estrutura química. Frequentemente estas alterações modificam o comportamento funcional da hemoglobina e podem produzir alterações nas hemácias, com conseqüências para as suas funções (SOUZA; RÉGO, 2002).

As cadeias polipeptídicas alfa, beta, gama e delta, bem como as cadeias embrionárias zeta e épsilon, são sintetizadas sob controle genético. Esse controle pode ser entendido como o comando sobre os genes responsáveis pela estruturação específica de cada tipo de cadeia polipeptídica - os genes estruturais -, e sobre os genes responsáveis pelo controle da quantidade de cada cadeia sintetizada - os genes reguladores (FUCHAROEN; WINICHAGOON, 2002).

Alterações envolvendo os genes estruturais promovem a formação de moléculas de hemoglobinas com características bioquímicas diferentes aos das hemoglobinas normais por isso denominadas hemoglobinas variantes. Mutações afetando os genes reguladores promovem desequilíbrio do conteúdo quantitativo das cadeias, e conseqüentemente dos tipos normais de hemoglobinas, causando as talassemias. Dessa forma, as hemoglobinas variantes e as talassemias são

classificadas como hemoglobinas anormais hereditárias (FUCHAROEN; WINICHAGOON, 2002).

A detecção de hemoglobinas variantes em larga escala, teve início em 1949, quando o Professor Linus Pauling e seus colaboradores diferenciaram físico-quimicamente a hemoglobina da anemia falciforme, a Hb S, da hemoglobina normal. Nos anos seguintes, com o aprimoramento das técnicas eletroforéticas, muitas outras variantes foram sendo descritas (PAULING; ITANO; SIGNER, 1949)

Em 1962, prevendo-se o grande aumento de hemoglobinas anormais a serem descobertas, ficou estabelecido durante o IX Congresso da Sociedade Internacional de Hematologia que as hemoglobinas variantes descritas a partir daquela data teriam o nome do local de procedência do indivíduo portador da hemoglobinopatia, do laboratório, do hospital ou da cidade em fossem descobertas (FUCHAROEN; WINICHAGOON, 2002).

1.2. Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias, também conhecidas como distúrbios hereditários da hemoglobina (Hb) humana, são doenças geneticamente determinadas e apresentam morbidade significativa em todo o mundo. Assim, milhões de pessoas trazem em seu patrimônio genético hemoglobinas anormais em várias combinações. Dessa forma, as anemias hereditárias compreendem um grupo de condições de grande complexidade (THOMPSON *et al*, 1993).

Atualmente mais de setecentas hemoglobinas anômalas são conhecidas, e dentre elas somente três (as hemoglobinas S, C e E) encontram-se em alta frequência no mundo.(WEATHERALL ; CLEGG, 2001). O Brasil se caracteriza por

significativa miscigenação étnica, onde o processo de colonização teve grande influencia na dispersão dos genes anormais, sendo as principais a Doença Falciforme e as talassemias. Assim, a distribuição das hemoglobinas anormais provenientes de formas variantes, e talassemias, estão relacionadas com as etnias que compõem nossa população (PAIVA E SILVA; RAMALHO,1997).

Tendo em vista a gravidade clínica dos homozigotos das hemoglobinopatias e a alta frequência dos heterozigotos, a triagem destas entidades genéticas merece destaque. Ressalte-se que a detecção antenatal em países onde o aborto terapêutico não é permitido pode resultar em medidas preventivas, com objetivos primordialmente assistenciais e não eugênicos (COMPRI *et al*, 1996).

A Portaria nº. 822/01 do Ministério da Saúde (MS) incluiu as hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), dentre os benefícios dessa Portaria, deve-se mencionar a restauração de um dos princípios fundamentais da Ética Médica, que é o da igualdade, garantindo acesso igual aos testes de triagem a todos os recém-nascidos brasileiros, independentemente da origem geográfica, etnia e classe-econômica; outro aspecto importante foi o de adequar a triagem neonatal dos erros inatos do metabolismo às características étnicas das populações brasileiras (M. SAÚDE, BRASIL, 2002).

A Portaria Nº 1.391 de 16 de Agosto de 2005 do Ministério da Saúde promove a garantia do seguimento das pessoas diagnosticadas com hemoglobinopatias pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), recebendo os pacientes e integrando-os na rede de assistência do Sistema Único de Saúde - SUS a partir, prioritariamente, da Hemorrede Pública, e provendo assistência às pessoas com diagnóstico tardio de Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias, com a criação

de um cadastro nacional de doentes falciformes e outras hemoglobinopatias (M. SAÚDE, BRASIL, 2005).

A porcentagem de mortalidade entre crianças menores de 5 anos com anemia falciforme é de cerca de 25 a 30%, e a maioria das mortes neste grupo é secundária a infecções fatais, seqüestro esplênico ou crises aplásticas (NUZZO; FONSECA, 2004).

1.2.1. Hemoglobina S

É uma doença conhecida há séculos por povos de diferentes regiões da África. Exames radiológicos de ossos de pessoas que viveram na África há mais de 7000 anos mostraram lesões características desta condição mórbida. Os doentes eram identificados por tatuagem incisional para facilitar o diagnóstico e proibir o casamento com membros sadios do grupo (BONINI-DOMINGOS; NAOUM, 2001).

No período Neolítico (3.000 – 5.000 anos a.C.) ocorreu a transmissão da malária causada pelo *Plasmodium falciparum* proveniente da região que hoje corresponde à Etiópia. No continente Africano, a malária se propagou da costa oriental para a costa ocidental formando uma faixa coincidente com a alta prevalência de Hb S. Esse fato levou Allison, em 1954, a estabelecer uma relação entre o efeito protetivo da Hb S em portadores heterozigotos (Hb AS) frente ao desenvolvimento da malária causada pelo *Plasmodium falciparum*. (SCHNEIDER; HIGHTOWER; HOSTY, 1976).

A síndrome das células falciformes é conhecida como a mais comum das alterações hematológicas hereditárias conhecidas no homem. Sua distribuição é ampla, abrangendo todos os continentes, notadamente África, América do Norte,

América Latina e parte da Ásia. Estima-se que no Brasil há cerca de 4 milhões de pessoas portadoras do traço falciforme (Hb AS), e perto de 15 mil com anemia falciforme, que é a forma homozigota da doença (Hb SS). A previsão do Ministério da Saúde para 2005 é de 3.500 novos casos de pessoas com anemia falciforme e 250.000 casos novos de traços de Hb S (<http://www.anvisa.gov.br>).

Eritrócitos “peculiarmente alongados e em forma de foice” foram assinalados pela primeira vez por Herrick, em 1910 no sangue de um indivíduo negro anêmico, embora as manifestações clínicas da doença já fossem conhecidas séculos antes na África Ocidental. No Brasil, a primeira referência a um paciente com anemia falciforme se deve a Castro em 1933 (COSTA, 2001).

Em 1947, Accioly, no Brasil, pela primeira vez sugeriu que a falciformação ocorria como consequência de herança autossômica dominante, mas só em 1949, através de trabalhos de Neel e Beet, é que se definiu a doença somente em estado de homozigose, sendo os heterozigotos portadores assintomáticos (FIGUEIREDO, 1993). Ainda em 1949, Pauling e cols. demonstraram que indivíduos sofrendo de anemia falciforme possuíam hemoglobina que diferia da normal pela ausência de duas cargas negativas (PAULING; ITANO; SIGNER, 1949).

1.2.1.1. Alteração Molecular da Hb S

A alteração da Hb S é causada por uma mutação do gene beta da globina, produzindo alteração na estrutura da molécula. Por ser uma anomalia da globina beta, as características clínicas do estado homozigoto só serão percebidas após a estabilização da produção, que ocorre por volta do sexto mês de vida, quando a síntese de globina gama (atuante na fase fetal) é interrompida, enquanto que o gene

beta sintetiza em sua plenitude, betas normais (BONINI-DOMINGOS; NAOUM, 2001).

A Hb S, quimicamente representada por $\alpha_2^A \beta_2^S$, é uma variante da hemoglobina normal, a Hb A ($\alpha_2^A \beta_2^A$), devido a uma mutação genética que ocorreu há milhares de anos e que afetou uma das bases nitrogenadas do DNA que compõe o gene que sintetiza a globina beta (NAGEL; FABRY; PAGNIER, 1989).

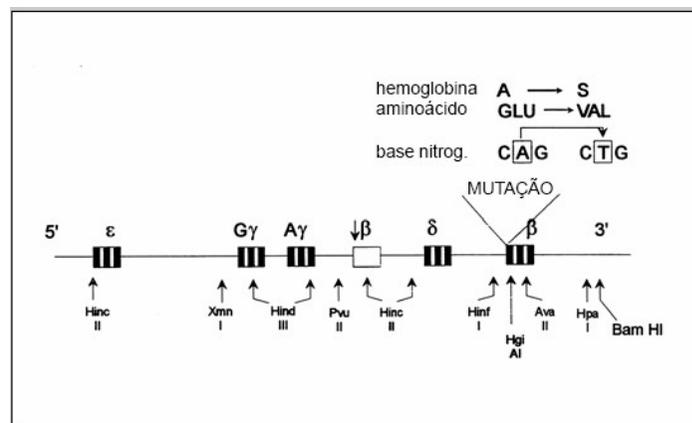


Figura 1: Mutação no gene da globina beta S do cromossomo 11. Substituição de Adenina (A) por Timina (T) e a conseqüente síntese de aminoácido Valina em lugar do Ácido Glutâmico (GLU), na posição 6 da cadeia polipeptídica beta. As setas indicam as regiões do agrupamento dos genes tipo Beta (Epsilon, Gama-Glicina, Gama-Alanina, Pseudo-Beta, Delta e Beta) suscetíveis às ações de várias sondas ou enzimas de restrição (Naoum,2000).

A alteração molecular primária na anemia falciforme é representada pela substituição de uma única base no códon 6 do gene da globina beta, uma adenina (A) é substituída por uma timina (T) (GAG→GTG). Esta mutação resulta na substituição do resíduo glutamílica na posição beta 6 por um resíduo valil (β 6 Glu→Val) como mostra a figura 1 (NAOUM, 2000). Esta substituição tem como conseqüência final a polimerização das moléculas dessa hemoglobina anormal (Hb S) quando desoxigenada (COSTA, 2001).

Os heterozigotos para Hb S têm um único alelo alterado. O outro gene da cadeia beta codifica uma cadeia de beta normal, resultando no traço falciforme. O gene β^S , quando associado a algumas outras variantes estruturais, como Hb C, resultam em indivíduos com Hb SC. A herança com talassemia beta resulta em uma síndrome HbS- β -talassemia (WEATHERALL ; CLEGG,1999).

1.2.1.2.Polimerização da Hb S

A hemoglobina S é solúvel quando saturada de oxigênio, entretanto, no processo de desoxigenação, devido à presença da valina na posição 6, estabelecem-se contatos intermoleculares, que seriam impossíveis na hemoglobina normal. Esses contatos fazem com que as moléculas de HbS sofram agregação e polimerização ou gelificação, que é o processo primário do evento de falcização (ROBBINS *et. al.*, 2000).

Esta pequena modificação estrutural é responsável por profundas alterações nas propriedades físico-químicas da molécula da hemoglobina no estado desoxigenado. Estas alterações culminam com um evento conhecido como falcização, que é a mudança da forma normal da hemácia para a forma de foice, resultando em alterações da reologia dos glóbulos vermelhos e da membrana eritrocitária (STEINBERG, 1998).

A polimerização progride, com adição de moléculas sucessivas de HbS à medida que a porcentagem de saturação de oxigênio da hemoglobina diminui. Os agregados maiores se alinham em fibras paralelas, formando um gel de cristais líquidos chamados tactóides (STEINBERG; EMBURY, 1986).

A polimerização da desoxi-hemoglobina S depende de numerosas variáveis, como concentração de oxigênio, pH, concentração de Hb S, temperatura, pressão, força iônica e presença de hemoglobinas normais. Somente a forma desoxigenada de hemoglobina S é passível de polimerização. Uma outra determinante da tendência para a polimerização é a presença de outras hemoglobinas como a HbF e a HbA2 que limitam a polimerização de HbS mais acentuadamente do que HbC e HbA (SCHNOG *et al*, 2004).

Os polímeros de hemoglobina S desoxigenados são estruturas tubulares constituídas de 14 filamentos de Hb S que se dispõem ao redor de um eixo central. Nos cristais de Hb S somente uma das valinas $\beta 6$ de cada tetrâmero participa dos contatos intermoleculares. A associação com a persistência hereditária com a hemoglobina fetal confere melhor prognóstico à doença (STEINBERG; EMBURY, 1986).

1.2.1.3. Cinética da Falcização

Todas as hemácias contendo predominantemente Hb S podem adquirir a forma clássica de lâmina de foice após desoxigenação, em decorrência da polimerização intracelular da desoxi-hemoglobina S, processo normalmente reversível após a reoxigenação (COSTA, 2001).

A membrana eritrocitária é muito afetada durante a falcização, caracterizada por desarranjos das proteínas espectrina-actina, diminuição das glicoproteínas, geração de radicais livres oxidantes e orientação anormal dos fosfolípidios, apresentando deformações sob forma de escavações na membrana dos eritrócitos. Em nível circulatório a alteração da plasticidade normal dos eritrócitos

desencadeada pelos efeitos polimerizantes da Hb S confere aos eritrócitos falcêmicos com maior possibilidade de aderirem ao endotélio vascular. Esta aderência decorre de interações entre as células endoteliais e os eritrócitos falcêmicos, com a participação de antígenos de superfície celular (CD36 e CD44) e integrinas - proteínas de membranas que juntamente com fibronectina e laminina se ligam às células falcêmicas. As proteínas plasmáticas também participam da ligação dos eritrócitos falcêmicos com as células endoteliais, com destaques para o fator de Willebrand, trombospondina, fibrinogênio e fibronectina (STEINBERG, 1998).

As células endoteliais interagem com CD36, lamininas, glicoproteína 1B, molécula de adesão vascular. Como consequência da elevada adesividade do eritrócito falcêmico ao endotélio vascular dos capilares, ocorre a estase venosa que desencadeia a hipóxia tecidual, fato que leva mais moléculas de Hb S ao estado de deoxi-Hb S, exarcebando uma situação circulatória já desfavorável e lesando os tecidos perfundidos por esses capilares. Eventualmente pode ocorrer oclusão total dos capilares (vaso-occlusão) com trombose, e desencadeamento de mecanismos da coagulação (STEINBERG; EMBURY 1986).

1.2.1.4. Hb AS – Traço Falciforme

O traço falciforme caracteriza o portador assintomático, pois é o heterozigoto falcêmico representado por Hb AS. Geralmente detecta-se o portador de Hb AS em estudos populacionais, ou análise devido à presença do gene da hemoglobina S em algum membro da família (BONINI-DOMINGOS ;VIANA-BARACIOLI; BONINI-DOMINGOS, 2004).

Geneticamente a condição heterozigota se deve à herança do gene da globina β^S por parte de um dos pais, juntamente com o gene da globina β^A

proveniente do outro. Nessa condição, a concentração da Hb A é sempre mais elevada do que a Hb S (BONINI-DOMINGOS ; NAOUM, 2001).

Os heterozigotos do gene da hemoglobina S, portadores do traço falciforme ou traço siclêmico, possuem um percentual de hemoglobina anômala que varia de 22% a 45% da hemoglobina total. Esses indivíduos apresentam, portanto, a Hb S em mistura com a hemoglobina normal A (frações A e A₂) , ao contrário dos homozigotos, que possuem quase toda a sua hemoglobina do tipo S, com pequena quantidade (1% a 3%) de hemoglobina A₂, e quantidades variáveis (0 a 30%) de Hb fetal (PAIVA E SILVA ; RAMALHO, 1997).

Além da África a Hb S também é encontrada em altas freqüências em populações não afro-descendentes da região do Mediterrâneo, da Índia e da Ásia Menor. Na Turquia, por exemplo, a freqüência do traço falciforme foi estimada em 13%, enquanto que em algumas regiões da Sicília, da Grécia e da Índia já foram registrados índices de até 40%. Entre afro-descendentes norte-americanos e brasileiros são encontrados índices ao redor de 8% (RAMALHO, 1986).

A real morbidade do traço falciforme é um assunto bastante controverso. Segundo alguns autores, as complicações clínicas são muito raras, quase excepcionais, enquanto que para outros, elas são relativamente freqüentes, conferindo ao traço falciforme significativa importância clínica (PAIVA E SILVA ; RAMALHO, 1997).

O traço falciforme é encontrado em todas as regiões brasileiras, e, por isso a anemia falciforme é considerada uma das doenças genéticas mais importantes do cenário epidemiológico brasileiro (DINIZ ; GUEDES, 2005).

Atualmente sabe-se que a transfusão de hemácias AS possui apenas algumas contra-indicações bem específicas, ou seja, em transfusões de substituição

total em recém-nascidos (sobretudo em prematuros), em pacientes com anemia falciforme em crise de falcização e em indivíduos sob hipóxia intensa (PAIVA E SILVA ; RAMALHO, 1997).

A hemoglobina S pode estar ainda associada a outras hemoglobinopatias como Hb SC e S/ β -talassemia. Pacientes com Hb SC tem uma evolução mais benigna que pacientes SS, porém podem apresentar quase todas as complicações da anemia falciforme. Existem dois tipos de associações de Hb S com β -talassemia: S/ β^0 talassemia, cujos pacientes têm evolução mais grave, semelhantes ao homocigotos SS e os pacientes S/ β^+ talassemia que podem apresentar evolução clínica grave ou moderada, dependendo da mutação de β -talassemia envolvida (COSTA, 2001).

1.2.2. Hemoglobina C e D

A Hb C foi descrita, em 1950, por Itano e Neel. Estudos realizados por Hunt e Ingram em 1958, revelaram que essa variante origina-se da substituição do ácido glutâmico (Glu) pela lisina (Lis) na posição 6 da cadeia beta. A troca de um aminoácido de carga negativa (Glu) por outro de carga positiva (Lis) altera completamente a mobilidade da hemoglobina mutante, sendo facilmente diferenciável da Hb A e de outros tipos de variantes (ITANO; NEEL, 1950).

A Hb C é o segundo tipo mais freqüente de hemoglobinas anormais no Brasil. É comum na região ocidental da África e em países onde a população afro-descendente é representativa, cuja prevalência de heterozigose para Hb AC alcança 30% da população. Embora menos convincente que para a Hb S, a distribuição da Hb C na África sugere que ela pode ter conferido vantagem de sobrevivência em

áreas endêmicas para malária (LUKENS, 1998). Clinicamente os portadores heterozigotos (Hb AC) são assintomáticos, não têm anemia e não apresentam evidência de aumento da destruição de eritrócitos. O esfregaço de sangue periférico pode exibir numerosas células em alvo e à eletroforese em pH alcalino, a concentração de Hb C é variável de 25% a 45% (ELGHETANY ; DAVEY, 1999)

A posição da Hb D na eletroforese de pH alcalino é ocupada também por quase duas dezenas de hemoglobinas variantes na eletroforese de hemoglobina em pH alcalino e entre essas, cinco foram classificadas como Hb D, porém se diferenciam bioquimicamente entre si: Hemoglobina D Los Angeles ou Punjab, D Bushman, D Ouled Rabah, D Iran e D Idaban. O tipo D Los Angeles ou Punjab, é o mais prevalente, e a sua frequência é próxima de 3% entre os habitantes do Noroeste da Índia (ELGHETANY ; DAVEY, 1999).

1.3.Talassemias

O nome talassemia vem do grego *thalassa*, que significa mar. Foi descrita pela primeira vez em 1925 por T. B. Cooley e P. Lee em um paciente com grave quadro de anemia, esplenomegalia e alterações ósseas (TEIXEIRA, 2001).

A hemoglobina deve ter a estrutura correta e estar disposta de tal maneira que o número de cadeias α corresponda precisamente aos da cadeia β . As síndromes talassêmicas constituem um grupo heterogêneo de distúrbios hematológicos genéticos que seguem as leis mendelianas de transmissão hereditária. Nas talassemias a alteração fundamental é o defeito na produção de cadeias de globina, não havendo substituição de aminoácidos, portanto há variação apenas quantitativa nas hemoglobinas normais, o que resulta em enchimento

reduzido dos glóbulos vermelhos com hemoglobina, e anemia (ROBBINS *et. al.*, 2000).

A limitação da síntese pode ocorrer nas cadeias alfa (α) de HbA, da HbA₂, da HbF ou da Hb Gower 2, nas cadeias beta (β) da HbA e nas cadeias delta (δ) da HbA₂, dando origem, respectivamente às talassemias α , β e β - δ . As doenças causadas no Brasil pelas talassemias beta são mais freqüentes que as α e as β - δ (TEIXEIRA., 2001).

A talassemia é distribuída pelo mundo todo, apresentando-se com freqüência entre povos do Sudeste da África, litoral do Mediterrâneo, Extremo Oriente e Oriente Médio. Nas Américas, a prevalência está relacionada com a herança étnica de seus povos. No Brasil, há grande incidência desses casos nas regiões Sul e Sudeste, acometendo cerca de 5% da população geral e podendo atingir 15-20% em certas regiões. Devido à migração não há virtualmente nenhum país no mundo em que a talassemia não afete certa porcentagem de seus habitantes (WENNING *et al*, 2000).

São classificadas de acordo com a cadeia polipeptídica produzida em taxa reduzida. Nas alfa e beta talassemias a deficiência está presente na síntese das cadeias alfa e beta respectivamente. Além das α e β -talassemias também são conhecidas outras formas, porém raras, como as talassemias do tipo delta-beta (δ - β), delta (δ), gama-delta-beta (γ - δ - β) e ainda a chamada persistência hereditária da hemoglobina fetal (PHHF) (WENNING *et al*, 2000).

1.3.1. Alfa Talassemia

As alfa-talassemias são classificadas de acordo com o número de genes alfa deletados, podendo acometer os quatro genes ou apenas alguns. Assim as

talassemias alfa se devem à deleção de um gene ($-\alpha/\alpha,\alpha$), dois ($-\alpha/\alpha,\alpha$) ou ($-\alpha/\alpha,\alpha$), três ($-\alpha/\alpha,\alpha$) ou quatro genes ($-\alpha/\alpha,\alpha$) deleções estas que podem diminuir (α) ou bloquear totalmente a síntese (α^0) (WENNING *et al*, 2000).

A maioria das alfa-talasseмии é causada por deleções gênicas. Como no genoma humano existem cópias duplicadas do gene que codifica as cadeias alfa, o pareamento na meiose não é sempre perfeito e eventualmente alguns *crossing-overs* podem originar regiões com uma cópia do gene, bem como com três (SALZANO ; BORTOLINI, 2002).

De uma forma geral, as síndromes alfa talassêmicas são classificadas em: **portador silencioso** (é o tipo mais comum entre as alfa-talasseмии e se deve a deleção de apenas um gene ($-\alpha/\alpha,\alpha$) alfa), **traço alfa talassêmico** (talassemia alfa com deleção de dois genes ($-\alpha/\alpha,\alpha$) ou ($-\alpha/\alpha,\alpha$) os genes envolvidos podem pertencer ao mesmo cromossomo, sendo o outro cromossomo portador de dois genes normais ou pode haver deleção de um gene de α -globina de cada um dos dois cromossomos), **doença de Hb H** (três dos quatro genes estão ausentes nessa doença e na eletroforese observa-se a presença de Hb H em concentrações entre 5 e 20% e há presença de tetrâmero β_4) e **hidropsia fetal** (é considerada a forma mais grave de todos os tipos de talassemia, caracterizada como forma letal e possui Hb Bart em elevadas concentrações) (WENNING *et al*,2000).

1.3.2. Beta Talassemia

Caracterizam-se por alteração quantitativa da síntese de cadeias beta e são classificadas como **beta-talassemia maior** (β^0/β^0) (apresentam redução acentuada na produção das cadeias beta, designado talassemia maior ou doença de Cooley),

beta-talassemia intermediária (são aquelas resultantes de diferentes interações genéticas) e **beta-talassemia menor** (este tipo de β -talassemia é mais comum do que forma maior e portanto heterozigotos (β/β^0 ou β/β^+); possuem pequena redução da taxa de síntese de cadeias β em comparação com a forma mais grave (OLIVIERI, 1999).

1.4. Distribuição geográfica das Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias estão classificadas entre as alterações genéticas mais freqüentes nas populações humanas, afetando cerca de 250 milhões de pessoas em todo o mundo. Cerca de 4,5% da população mundial manifestam portanto, alguma hemoglobinopatia (MAZZI *et al*, 2003). Sabe-se que as diferentes doenças da hemoglobina estão relacionadas à etnia (LISOT; SILLA, 2004).

A hemoglobina variante mais comum é a Hb S que, embora muito prevalente nos países africanos, atinge freqüências elevadas nas populações negras e suas descendências distribuídas por todos os continentes, e também em algumas regiões específicas como os países do Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia. Outras hemoglobinopatias apresentam alta prevalência em regiões específicas, como a Hb C no Oeste da África, a Hb E no Sudeste da Ásia e a Hb D Punjab na Índia e no Oriente Médio (NAOUM, 2001).

Nos países latino-americanos as hemoglobinopatias se apresentam como doenças de importância, particularmente nas ilhas do Caribe, onde a população é predominantemente de negros e a freqüência de doenças falciformes é significativamente alta. Em Cuba, cuja população é representada por 65% de brancos e 35% de negros descendentes de escravos procedentes do oeste da

África, as freqüências de Hb S e Hb C variam entre 3 e 7%, e a expectativa de nascimento anual de crianças com doenças falciformes é de 100 casos novos. Esse reduzido número de crianças com doenças falciformes se deve aos programas de prevenção em gestantes, com aproximadamente 160 mil análises eletroforéticas de hemoglobinas por ano (SALZANO; BORTOLINI, 2002).

A Venezuela e a Colômbia apresentam populações com significativas freqüências de negros e mulatos e, conseqüentemente, as prevalências de Hb S nos dois países também são altas. A Argentina, composta predominantemente por populações nativas e de origens européias, estas provenientes da Itália e principalmente da Espanha, tem a talassemia beta como o tipo de hemoglobinopatia mais comum (TORRES *et al.*, 2002)

Entre os países da América Central (Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica e Panamá), com população total próxima de 30 milhões de habitantes, as prevalências de Hb S e Hb C apresentam grande variabilidade. Na Costa Rica, em estudos populacionais, detectou-se 2,0% de alfa-talassemia e 0,2% de beta-talassemia heterozigotas, além de 11% de Hb AS, em estudos populacionais (NAOUM, 2001).

O México, país que expressa a segunda maior população entre os países latino-americanos, (cerca de 90 milhões de habitantes), apresenta sua composição étnica predominantemente de origem indígena, além de mestiços provenientes do cruzamento com espanhóis. Entre as hemoglobinopatias mais freqüentes destaca-se a talassemia beta heterozigota (0,1%), enquanto os casos de Hb S são esporádicos (NAOUM, 2001).

A população brasileira caracteriza-se por alto grau de miscigenação, com distribuição étnica diferenciada nas várias regiões geográficas do país. Em

decorrência disso apresenta prevalência variável de hemoglobinas anormais, influenciada por fatores ecológicos e raciais. Síndromes falcêmicas, Hb C e as talassemias alfa e beta são hemoglobinopatias comuns no Brasil (VIANA-BARACIOLI *et al*, 2001).

A introdução de Hb S nas Américas e no Brasil se deu com maior intensidade entre os séculos XVI e XVIII, motivada pelo tráfico de escravos africanos. A trajetória dos negros africanos para o Brasil foi heterogênea, uma vez que o tráfico se desenvolveu ao longo de 300 anos, carreando escravos de quase toda a costa ocidental da África. Acredita-se que nesse período entraram pelos portos da Bahia e Rio de Janeiro cerca de três milhões e seiscentos mil africanos (SALZANO, 1986).

A migração européia e asiática também foi diversificada estando representada principalmente por imigrantes portugueses, italianos e espanhóis. As talassemias são mais freqüentes em regiões que tiveram maior participação da colonização italiana. Outras variantes raras como as hemoglobinas D, J, I, N, G, são encontradas em diferentes localidades (ORLANDO *et al*, 2000).

Estudo efetuado em 101.000 amostras de sangue provenientes de 65 cidades de várias regiões do Brasil revelou que, para uma população aproximada de 140 milhões de pessoas, cerca de 10 milhões são portadores de hemoglobinas, sendo 2,1% de Hb AS. Esses resultados ressaltam a importância de testes de identificação de Hb S, pois para cada três milhões de crianças que nascem anualmente no Brasil, cerca de 63 mil serão portadoras de Hb AS (NAOUM, 2000).

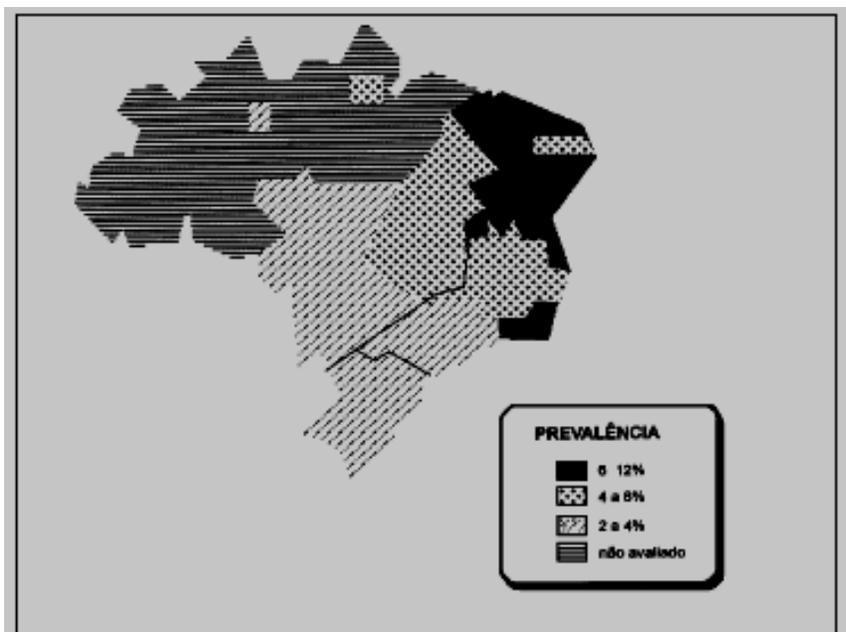


Figura 2: Distribuição das hemoglobinopatias no Brasil (NAOUM, 2001).

Segundo Zago (2001) a Hb S, encontra-se no Sudeste do país com prevalência de 2% de heterozigotos em populações mistas. Esta prevalência aumenta moderadamente em populações do Nordeste ou em grupos selecionados, podendo chegar a 6%. A Hb C apresenta prevalência de heterozigotos na ordem de 1%. A prevalência de média de β -talassemia no Sul e Sudeste ao redor de 1% da população geral, podendo elevar-se bastante em algumas comunidades isoladas.

Outro amplo estudo brasileiro identificou que 3,08% dos indivíduos tinham hemoglobinas anormais desdobradas em variantes moleculares (2,49%), talassemias (0,53%) e alterações induzidas pela formação de meta-hemoglobinemias (0,06%). A condição Hb AS foi a mais prevalente com 60,95%, as alfa e beta talassemias representaram 15,56%, a Hb AC foi detectada 14,27% e as formas mais raras em 9,27%. A frequência de Hb SS na população total foi de 0,04%. Entre os vinte portadores de Hb SS identificados e comprovados clinicamente, 18 pertenciam ao grupo de afro-descendentes e dois ao grupo caucasóide (NAOUM *et al.*, 1987).

Um estudo pioneiro comparando pacientes pediátricos com anemia falciforme realizado entre duas cidades do Brasil, São Paulo e Salvador sugeriram que a presença de um fenótipo com menor gravidade clínica nos pacientes de Salvador, possivelmente relacionados a fatores genéticos, ambientais e sócio-econômicos. Os pacientes de São Paulo apresentaram um número maior de internações por vaso-occlusão nos diferentes genótipos (LYRA *et al*, 2005).

Entre doadores de sangue, estudo realizado na rede pública do Distrito Federal identificou 2,06 % de portadores de Hb AS (VERAS *et al*, 1998). Estudo realizado no estado de São Paulo encontrou 0,76% de Hb S, 1,14% de Hb C, 1,90% de alfa-talassemia, 0,38% de beta-talassemia e 0,76% de outras hemoglobinopatias em seus doadores de sangue. Quando a presença de hemoglobinas anormais foi correlacionada com a origem racial os autores encontraram no grupo caucasóide 0,76% de Hb AS, 1,14% de Hb AC, 1,90% de alfa-talassemia e 0,38% beta-talassemia; entre os não caucasóides foi encontrado 1 indivíduo com Hb AC e 2 com outras hemoglobinopatias (ORLANDO *et al.*, 2000). Em outro estudo, este realizado na região Nordeste, detectou-se hemoglobinas anormais em 2,75% dos indivíduos estudados, sendo 2,48%, 0,16% e 0,11% pertencentes aos genótipos AS,SS e AC respectivamente (BEZERRA *et al*, 1991).

1.5. Banco de Sangue

Os centros de doação de sangue têm como objetivo principal a captação, o registro, a triagem clínica e a coleta de sangue para o atendimento de pessoas que necessitam de transfusão. Alguns centros de doação acumulam outras competências, como a testagem, o processamento, o armazenamento, o transporte

e a distribuição do sangue na rede de saúde pública e privada da região onde se localiza (M. SAÚDE, RDC 343,2002).

No Brasil, conforme previsto na legislação vigente, adotam-se valores mínimos de hemoglobina ou do hematócrito iguais ou superiores a 12,0g/dl ou 38%, respectivamente para o sexo feminino, ou 13g/dl e 40%, respectivamente para o sexo masculino. Entretanto, nos Estados Unidos, segundo exigências da Agência Federal Americana de Controle de Drogas e Alimentos (*Food e Drug Administration – FDA*) a taxa mínima aceitável para a doação de sangue é de 12,5g/dl, tanto para o sexo masculino quanto para o sexo feminino; enquanto que a Associação Americana de Bancos de Sangue (*American Association of Blood Banks - AABB*) recomenda o valor mínimo de hemoglobina de 13,5g/dl para homens e 12,5g/dl para mulheres (CANÇADO *et al*, 2001)

Transfusão de sangue, técnicas e estratégias que evitam a necessidade de sangue são atividades complementares que constituem a área clínica da Medicina Transfusional. Recentes avanços na segurança e qualidade do sangue e o aumento dos custos associados com a terapia transfusional têm levado à reavaliação da prática desta área da medicina (RAZOUK; REICHE, 2004).

Desde 1976 recomenda-se a inclusão de testagem de hemoglobinas no protocolo de exames para a doação de sangue no Brasil. Essa década foi um período em que a informação genética sobre o traço e a anemia falciforme se popularizou no mundo, especialmente em decorrência dos programas de *screenig* genético dos Estados Unidos e Cuba (ARAUJO *et al*, 2004).

Em 1996 o governo instituiu um grupo de trabalho responsável pela elaboração do Programa de Anemia Falciforme (PAF), cujo objetivo principal é, por meio de atendimento em saúde especializado e ações educativas, promover a

qualidade de vida das pessoas portadoras da anemia falciforme (DINIZ ; GUEDES; TRIVELINO, 2005).

1.5.1.O traço falciforme e a doação de sangue

O problema da doação de sangue por brasileiros portadores do traço falciforme começou a ser discutido na década de 70. Nessa época, Ramalho (1976), baseado na contra-indicação formal da transfusão de hemácias AS feita por importantes autores norte-americanos (MOLLISON, 1972; OSKI ; NAIMAN, 1972), sugeriu que a investigação dessa hemoglobina anômala começasse a ser realizada nos serviços brasileiros de hemoterapia. Nas palavras do autor, esse procedimento "seria duplamente útil, beneficiando simultaneamente o doador e o receptor de sangue. Realmente, enquanto que esse último estaria sendo protegido do recebimento de hemácias anômalas, o primeiro, se identificado como siclêmico, poderia ser devidamente orientado e prevenido contra problemas de ordem individual e familiar".

Os estudos entre doadores de sangue mostram que a prevalência do traço falciforme é maior em Estados da região Nordeste, como é o caso da Bahia, onde há maior presença de afro-descendentes, e o traço falciforme é encontrado em 5,5% da população doadora de sangue , ao contrário, por exemplo, de cidades da região Sul e Sudeste do país (DINIZ; GUEDES, 2005).

De acordo com as Normas Técnicas do Ministério da Saúde (NTMS) (portaria 1376 de 19/11/1993), é recomendável a detecção de Hb S devido à sua alta prevalência na população brasileira. Diante deste fato, a chance de se encontrar um receptor com traço falciforme é grande. O número de células anormais faria com

que, mesmo receptores com Hb AA, tivessem uma transfusão ineficiente, não cumprindo assim o seu papel, obtendo-se uma transfusão com "vida mais curta", uma vez que a concentração de Hb A seria menor. O paciente com doença falciforme tem níveis elevados de Hb S e, ao receber transfusão de sangue Hb AS, aumenta-se a concentração de Hb S em torno de 90%, e ocorrerá o risco de desenvolver crise falciforme (PRUDENCIO, COVAS, BONINI-DOMINGO, 2000).

Pacientes normais (AA), debilitados e com quadro de hipóxia, o sangue transfundido com Hb AS poderá provocar hemólise intravascular. Ould Amar e cols. (1996) e Mollison e cols. (1997) não recomendam sangue com Hb AS para transfusão em recém nascidos e exsanguíneo transfusão em pacientes SS ou em pacientes submetidos à cirurgia, devido à oxigenação ineficiente que tal sangue provocaria. Bodensteiner, 1994, relatou e Ould Amar e cols, 1997 corroboraram que sangue AS, quando submetido a filtro de leucócitos, tem velocidade de filtração menor que o sangue AA e a eficiência na retenção de leucócitos é muito menor que no sangue sabidamente AA, podendo ainda ocorrer obstrução nestes filtros (PRUDENCIO; COVAS; BONINI-DOMINGO, 2000).

Embora existam diversas hipóteses explanatórias à respeito da polimerização intracelular da Hb S, evidências demonstram que esse fenômeno é responsável para falhas do filtro para a redução do leucócito. O pH baixo e a osmolaridade elevado do anticoagulante-preservativo do citrato, a baixa saturação do oxigênio no sangue venoso e a possível mudança da oxigenação com armazenamento, podem incrementar a polimerização da Hb S (BYRNE *et al*, 2003).

A triagem populacional de portadores heterozigotos do traço falciforme é normalmente justificada para fins de aconselhamento genético desses indivíduos. De

fato, do casamento entre dois indivíduos heterozigotos para Hb AS, ou do casamento de um indivíduo AS com heterozigotos de outras hemoglobinopatias também freqüentes na população (hemoglobina C, β -talassemia, etc.), podem nascer crianças com anemia hemolítica crônica e incurável (PAIVA E SILVA ; RAMALHO, 1997).

1.6. Técnicas de diagnóstico para hemoglobinopatias

Considerando que as hemoglobinopatias determinam importantes manifestações clínicas, cabe ressaltar a importância do diagnóstico laboratorial precoce destas patologias, evitando as conseqüências deletérias da doença (ZAMARRO *et al.*, 2002).

É indiscutível a importância dos índices hematimétricos do eritrograma. Técnicas citológicas podem ser adicionadas a estes dados, como a análise morfológica dos eritrócitos, pesquisa intra-eritrocitária de hemoglobina H, teste de falcização, teste de solubilidade (HUTCHISON; DAVEY, 1999) enquanto que dosagens bioquímicas, eletroforéticas e técnicas especiais como focalização isoelétrica ou a cromatografia líquida de alta performance também são de grande valia (DAUDT *et al.*, 2002; WAGNER, 2002).

1.6.1. Eritrograma

Compõem esse grupo as seguintes avaliações: contagem de eritrócitos, dosagem de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (NAOUM ;BONINI-DOMINGOS, 2001).

A contagem de eritrócitos ao microscópio, na histórica câmara de Neubauer, é estafante, inexata e está abandonada. Inventados por Wallace Coulter na década de 50, os aparelhos automatizados contam os pulsos de condutividade, causados pelos glóbulos, ao cruzarem um orifício pelo qual flui uma corrente elétrica. Os novos aparelhos no princípio Coulter, baseando-se na proporcionalidade entre a amplitude dos pulsos de condutividade e as dimensões dos eritrócitos, considerados modelos altamente sofisticados e de excepcional qualidade, aspiram, diluem e distribuem as amostras em múltiplos canais, fornecem toda a série de parâmetros numéricos. O emprego generalizado de aparelhos nesse nível abriu a nova era na Hematologia: números reprodutíveis, VCM confiável, facilitando a classificação das anemias, contagem de plaquetas na rotina (FAILACE, 1995).

1.6.2. Teste de Solubilidade

O teste de solubilidade tem como princípio reduzir a Hb S, que é relativamente insolúvel no tampão inorgânico. As hemoglobinas normais e as variantes comuns, como por exemplo, C e D são solúveis. A lise dos eritrócitos, quando na mistura de ditionito de sódio no teste de solubilidade, causa uma “opacidade” na leitura do teste, assim a turvação da solução indica a presença de Hb S. O teste de solubilidade é indicado para as amostras que apresentarem perfil eletroforético sugestivo de Hb S (WARREN, *et al*, 1975).

Reagentes:

Solução Fosfato:

1.KH₂PO₄(anidro)33,78g

2.K₂HPO₄ (anidro)59,33g

3.Saponina P.A.2,5g

4.Água destilada250 ml

Ditionito de sódio (NAOUM, 1999)

Procedimento e Interpretação:

1.Dissolver 100 mg de ditionito de sódio em 10 ml da solução fosfato. Esta quantidade é suficiente para 5 testes.

2.Em um tubo contendo 2 ml da solução acima preparada, adicionar 20 microlitros de sangue.

3.Misturar por rotação e aguardar 2 minutos

4.Colocar o tubo a 2 cm de um papel branco com traçado com linhas negras horizontais (NAOUM, 1999).

A turvação da solução (insolubilidade) indica possível presença de Hb S; não se observam as linhas negras. As hemoglobinas solúveis permitem as observações das linhas traçadas no papel. Algumas hemoglobinas podem resultar em resultados falsos positivos no teste de solubilidade : Hb I, Hb Bart's, Hb C-Georgetown, Hb Alexandra e Hb C-Harlem. Amostras com policitemia também podem dar testes falsos positivos e concentrações aumentadas de Hb F inibem a reação (OLD *et al.*, 2005).

1.6.3.Teste de Falcização ou Pesquisa de Drepanócitos

Sob baixa tensão de oxigênio, os eritrócitos contendo Hb S tornam a forma característica de foice. O metabisulfito de sódio reduz a tensão de oxigênio, assim quando uma solução de metabisulfito é adicionada ao sangue total, e esta

mistura é vedada entre lâmina e lamínula por meio de esmalte, os eritrócitos contendo Hb S se deformam. É uma avaliação apenas qualitativa que indica, quando positiva, a presença de Hb S nos eritrócitos sem caracterizar o genótipo (AS, SS, SC, S + Fetal ou SD) (NAOUM BONINI-DOMINGOS;, 2001).

Reagentes:

1.Solução de metabissulfito de sódio a 2%:

Na₂S₂O₂200mg

Água destilada q.s.p.10ml

2.Esmalte.

Procedimento e Interpretação:

1.Mistura-se na lâmina de microscopia 20µl de sangue total colhido com EDTA e 20µ de metabissulfito de sódio a 2%.

2.Cobri-se a preparação com lamínula vedando os quatro lados com esmalte. Conserva-se a preparação em placa de Petri em algodão embebido com água (câmara úmida).

3.Examinar em microscópio com objetiva de 10 ou 40x, após 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas e 24 horas.

O fenômeno da falcização ocorre em portadores de Hb S, com variação de tempo entre os diferentes tipos, entretanto, essa relação falcização/genótipo/ tempo não é constante e também não serve para caracterizar o genótipo. Após 24 horas na ausência de eritrócitos falcizados, o resultado será dado como negativo (NAOUM; BONINI-DOMINGOS; 2001).

Devido a grande quantidade de Hb Fetal no período neonatal, que funciona como efeito diluidor, testes como os de falcização, que utilizam metabisulfito de sódio, freqüentemente resultam em falsos negativos (PRUDÊNCIO, COVAS, BONINI-DOMINGOS, 2000).

1.6.4.Eletroforese de hemoglobina Qualitativa em acetato de celulose pH 8,6

A eletroforese é um processo analítico de separação de misturas, onde o principal agente é o campo elétrico. A migração das hemoglobinas no campo elétrico permite a separação e identificação das mesmas. Em pH 8,6 a hemoglobina, que é uma proteína carregada negativamente, migra em direção ao pólo positivo (ânodo). Esse modo identifica as hemoglobinas normais e grande número de hemoglobinas variantes.

A Hb A constitui 96% das hemoglobinas, enquanto que a Hb A2 apresenta concentração variável de 2,0 a 3,5%, exceto na presença de Hb S quando por HPLC os valores poderão ser de 3,5 a 4,0% (OLD, 2003).

Equipamentos e reagentes:

- 1.Cuba de eletroforese e fonte geradora de voltagem
- 2.Tiras de acetato de celulose
- 3.Papel absorvente
- 4.Aplicador de amostras
- 5.Solução tampão: Tris-EDTA-borato 0,025M pH 8,6.

Procedimento e Interpretação:

- 1.Colocar igual quantidade de solução tampão em cada compartimento eletrolítico da cuba de eletroforese;

2.As tiras de acetato de celulose são embebidas na solução tampão, previamente colocada numa vasilha, por pelo menos 15 minutos;

3.Enxugar o acetato de celulose entre duas folhas de papel absorvente para remover o excesso de solução tampão;

4.Ajustar as tiras de acetato de celulose na cuba de eletroforese, deixando-as esticadas. Verifica-se se as duas extremidades estão mergulhadas na solução tampão de cada compartimento da cuba;

5.Aplicar 20µl de hemolisado sobre suporte de acetato de celulose a 2cm do compartimento do pólo negativo(catodo);

6.Passar 200 ou 300 volts por 30 ou 20 minutos, respectivamente;

7.As bandas de hemoglobina fracionadas devem ser analisadas individualmente (AS, AC, AD), sem corar.

8. Remover as tiras e corar com Ponceau (ou outro corante para proteínas) por 10 minutos, no mínimo;

9. Transferir as tiras para um recipiente contendo solução descorante, agitando-a cuidadosamente por 3 a 5 minutos. Trocar a solução descorante usada por outra limpa, e deixar as tiras por tempo necessário para clareá-las;

10. Transparentização do acetato de celulose: a) mergulhar as tiras descoradas em metanol puro por 1 a 2 minutos; b) remover as tiras para um recipiente contendo ácido acético/metanol/glicerina, na proporção 14:85:1, por 1 minuto; c) colocar as tiras bem esticadas em superfície de vidro, expondo-a sobre luz infra-vermelha, a uma distância entre 5 e 10 cm, até total transparentização, ou em estufa a 65°C, por 5 a 10 minutos (PRUDÊNCIO, COVAS, BONINI-DOMINGOS, 2000).

Durante a eletroforese é de suma importância o uso de amostras controles tipo AS. A utilização de mapas de referência é muito útil na interpretação dos resultados (PRUDÊNCIO, COVAS, BONINI-DOMINGOS, 2000).

As diferentes mobilidades verificadas entre as diversas hemoglobinas com defeitos estruturais devem-se as alterações de cargas elétricas, causadas por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoelétricos (pI). As hemoglobinas variantes que não envolvem alterações de cargas elétricas, geralmente apresentam mobilidade eletroforética semelhante à da Hb A. Resquícios de Hb Fetal também podem ser encontrados em pessoas normais com idade acima de 6 meses (ELGHETANY ; DAVEY, 1999).

1.6.5. Cromatografia Líquida de Alta Performance

O HPLC foi escolhido como “padrão-ouro” para a identificação das hemoglobinopatias porque é um método rápido, preciso e com boa reprodutibilidade para a identificação das frações de hemoglobina com quantificação. Fornece também dados qualitativos das hemoglobinas variantes, mesmo que estas estejam presentes em pequenas quantidades, permitindo o diagnóstico de diferentes hemoglobinopatias, pois este tem a condição de fracionar a bandas de hemoglobinas anormais (ONDEI; ZAMARRO; BONINI-DOMINGOS, 2005; SOUZA *et al*, 2003)

É uma das mais sensíveis formas de fracionamento cromatográfico. As colunas com diferentes gradientes de pH e composição química são previamente adquiridas, conforme o teste que se deseja realizar. Para o estudo de hemoglobinas,

especialmente o estrutural, a resolução da técnica é altamente sensível (CLARKE; HINGGINS, 2000).

1.7. JUSTIFICATIVA

Estima-se que, em uma população de 140 milhões de pessoas, cerca de 10 milhões são portadoras de hemoglobinas anormais (RAMALHO *et al*, 1999).

Em virtude da importância da implantação de programas que identifiquem as principais hemoglobinopatias em doadores de sangue, bem como da necessidade da educação dos doadores acometidos, justifica-se um estudo para definir o perfil epidemiológico das hemoglobinopatias entre doadores, objetivando assim a melhoria do sangue a ser transfundido, bem como também o aspecto educacional, através do qual os portadores deverão ser orientados sobre sua alteração genética e aconselhados a realizarem exames em seus familiares.

1.8. OBJETIVOS

- **Geral:**

Identificar o perfil das hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia do Estado de Sergipe (HEMOSE).

- **Específicos:**

1. Detectar a frequência de doadores portadores de hemoglobinopatias assintomáticas.

2. Comparar algumas técnicas disponíveis para o diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias quando utilizadas em indivíduos normais.

2. CASUÍSTICA E MÉTODOS

2.1. Característica Demográfica da População

Segundo IBGE – Censos Demográficos e Contagem Populacional, a população Sergipana em 2004 é distribuída em 1.903.065 habitantes, onde 933.112 estão representados pelo gênero masculino e 969.953 pelo gênero feminino. Sergipe é o penúltimo Estado do Nordeste na direção norte-sul, tem por limites: ao norte o Estado de Alagoas, ao leste o Oceano Atlântico e ao sul e oeste o Estado da Bahia. Sua área total é de 21.910,348 km² e possui 75 municípios. A população residente em Sergipe, distribuídos entre a faixa etária de 15 a 69 anos é de 1.202.908 habitantes.

2.2. População Alvo

A população alvo desse estudo foram doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe, no período de setembro de 2004 a junho de 2005, analisando um total de 1345 doadores. Esse hemocentro constitui o principal centro de doações do Estado de Sergipe, recebendo cerca de 2.000 doações por mês, de pessoas vindas de vários municípios do Estado.

Consideraram-se elegíveis para a doação de sangue os doadores a partir de 18 anos, com mais de 50 kg, com valores de hemoglobina entre 12,0 e 16,0g/dL para as mulheres e entre 13,0g/dL e 17,0g/dL para os homens, além de aptos na triagem clínica(M. DA SAÚDE, RDC 343, 2002).

Após a triagem clínica, os doadores ficam aguardando próximos à sala de coleta para serem chamados para a doação. Nesse momento o doador foi orientado sobre a sua participação da pesquisa através de uma breve explicação sobre o tema e de como seria a sua participação neste trabalho.

2.3. Seleção Amostral

A seleção dos participantes foi realizada de maneira aleatória, uma a duas vezes por semana, sendo o primeiro dia da semana sorteado e os demais alternados; o turno de escolha para as coletas foi o da manhã devido ao fato de o número de doações ser maior e pela facilidade de realização dos exames no mesmo dia em que foi colhido.

2.4. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo Transversal.

2.5. Cálculo da Amostra

Para o cálculo amostral foi utilizada, através de suposições baseadas em resultados de outros levantamentos feitos em outras populações, em épocas anteriores, antes do levantamento propriamente dito, a seguinte fórmula (COCHRAN, 1977):

$$n \rightarrow \frac{d^2}{z^2 (PQ)}$$

Onde: $d = p' - p$; $Z = IC$; $P =$ proporção do evento; $Q = 1-P$; $n =$ o tamanho da amostra que se deseja estudar.

- $P = 1,7\%$
- $d = 0,7\%$; frequência em estudos da região sudeste.
- $Z = 1,96$ (IC 95%)
- $Q = 98,3\%$

$n = 1.300$ amostras

2.6.Coleta da Amostra

As amostras de sangue venoso (5,0ml) foram colhidas em Vacutainers®, com EDTA (sal disódico do ácido etilenodinitrotetracético) como anticoagulante, na concentração de 1,5mg/ml (ACEDO *et al*, 2002).

As informações para caracterizar o doador foram obtidas no instante em o mesmo estava sendo entrevistado pelo pesquisador, levando em consideração o gênero, idade e cor da pele.

2.7.Exames Realizados

Inicialmente foi realizado o eritrograma automatizado em todas as amostras onde foram obtidos os valores de Hemácia, Dosagem de Hemoglobina, Determinação do Hematócrito e os Índices Hematimétricos: Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) através do aparelho Coulter® T – 890.

Logo após o eritrograma foi realizada eletroforese alcalina em pH 8,6 com tampão tris-borato em todas as amostras dos doadores. Através dos valores de Hematócrito ficou padronizada a concentração da diluição das amostras de sangue

total com a saponina a 1%. Foi preparado o reativo hemolisante de acordo com as seguinte padronizações citadas por Naoum; Bonini-Domingos(2001):

- Saponina P.A.1g
- Água destilada100ml

Procedimento:

- Para amostras de sangue com hematócrito acima de 40%, foi misturado um volume de sangue com 2 volumes de reativo hemolisante;
- Para amostras de sangue com hematócrito entre 30% e 40%, misturou-se 1 volume de sangue com 1 volume de reativo hemolisante.

A homogeneização processou-se até a hemólise completa da mistura e o hemolisado foi aplicado após cinco minutos para a eletroforese alcalina de hemoglobina. Este teste serviu como triagem para hemoglobinas anormais que, depois de detectadas foram submetidas ao teste de falcização, teste de solubilidade e Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC). Todas as amostras que apresentaram hemoglobina variante, além de todos os testes acima citados, foram encaminhadas para o Laboratório Hermes Pardini, em Belo Horizonte, para a execução da Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC).

2.8. Considerações Éticas

Este trabalho foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Sergipe, por estar adequado às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde). Todos os doadores

aptos que se apresentaram pela manhã no dia sorteado foram convidados a participar através de uma entrevista e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

2.9. Análise Estatística

Os resultados foram analisados através de distribuição de freqüências, Teste Exato de Fisher e Teste Qui-Quadrado usando *software* Epi Info (versão 6.04B).

3. RESULTADOS

Do total de 1345 doadores de sangue analisados foi observada positividade para hemoglobinopatias em 76 (5,6%) dos doadores, sendo 55 (4,1%) AS, 19 (1,4%) AC, 1 (0,1%) AD e 1 (0,1%) sugestivo de beta-talassemia como está representado no Gráfico 1.

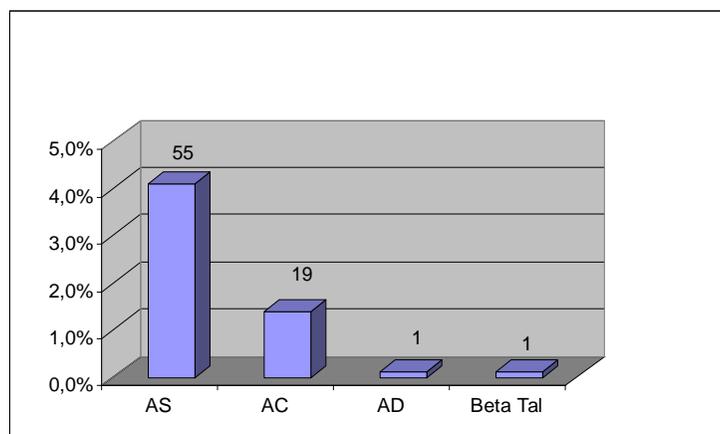


Gráfico 1: Positividade para hemoglobinopatias entre os doadores de sangue do HEMOSE

A tabela 1 demonstra que não há associação significativa entre indivíduos normais ou com hemoglobinopatias e o gênero dos indivíduos amostrados através do Teste Qui-quadrado: $\chi^2_{0,05,1} = 0,96$; $p > 0,05$.

Tabela 1. Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias em relação ao gênero.

Grupos	Gênero		Total
	masculino	feminino	
Normais	68 (45%)	7 (5%)	75 (50%)
Hemoglobinopatias*	63 (42%)	12 (8%)	75 (50%)
Total	131 (87%)	19 (13%)	150 (100%)

Teste Qui-quadrado: $\chi^2_{0,05,1} = 0,96$; $p > 0,05$

*Exceto sugestivo beta-talassemia

Os dados expostos na tabela 2 demonstram que não há associação entre os grupos Normais e com Hemoglobinopatias em relação ao grupo de brancos e não brancos pelo Teste Qui-quadrado: $\chi^2_{0.05,1} = 0.04$; $p > 0.05$.

Tabela 2. Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias em relação à cor da pele.

Grupos	Cor da pele		Total
	branco	não branco	
Normais	14 (9%)	61 (41%)	75 (50%)
Hemoglobinopatias*	12 (8%)	63 (42%)	75 (50%)
Total	26 (17%)	124 (83%)	150 (100%)

Teste Qui-quadrado: $\chi^2_{0.05,1} = 0.04$; $p > 0.05$.

*Exceto sugestivo beta-talassemia

Através do Teste Exato de Fisher, com $p > 0.05$, comprova-se que não há associação entre as hemoglobinopatias AS e AC+AD e os grupos de brancos e não brancos, assim a cor da pele não é considerada um discriminador para identificação de hemoglobinopatias.

Foi utilizada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) para a obtenção dos valores das frações de hemoglobina dos 76 doadores que apresentaram positividade para alguma hemoglobinopatia e a tabela 3 representa esses resultados através da média, desvio padrão e amplitude de variação.

Tabela 3: Valores, média e desvio padrão para as frações de hemoglobinas.

Frações de Hemoglobina	Média	Desvio Padrão	Amplitude de variação
A ₁	59,93	05,02	53,8 – 88,3
A ₂	3,46	0,57	1,5 – 7,2
F	0,79	1,23	0,0 – 4,5
S	36,25	3,98	24,1 – 41,8
C	36,85	3,78	28,8 – 43,0
D	38,1		

A tabela 4 comprova estatisticamente que não há diferença significativa entre as médias de Hemácias, Hemoglobina, Hematócrito e HCM nos portadores de Hemoglobinopatias em relação aos Normais através da análise de variância pelo Teste ANOVA, porém entre as médias de VCM e CHCM ficou demonstrado que há diferença significativa entre os indivíduos Normais e os portadores de hemoglobinopatias.

Tabela 4. Distribuição das distribuições de freqüências dos índices hematimétricos entre indivíduos normais e com hemoglobinopatias.

	N	Amplitude	média ± erro	desvio padrão	coeficiente de variação (%)	F
Hm						
Normais	75	3.97-6.04	4.97±0.05	0.50	10.18	
AS	55	4,01-6.77	4.98±0.07	0.57	11.48	0.47 ^{ns}
AC + AD	20	4,54-6,27	5.10±0.10	0.48	9.56	
Hb						
Normais	75	11.6-16.9	14.34±0.16	1.42	9.93	
AS	55	11.1-17.1	14.02±0.18	1.39	9.94	0.87 ^{ns}
AC + AD	20	11.5-16.0	14.19±0.21	0.95	6.75	
Ht						
Normais	75	35.5-51.1	43.30±0.45	3.90	9.02	
AS	55	35.1-50.0	41.70±0.53	3.95	9.48	2.89 ^{ns}
AC + AD	20	35.0-47.1	42.25±0.65	2.93	6.94	
HCM						
Normais	75	20.8-32.2	28.79±0.21	1.87	6.52	
AS	55	21.6-32.5	28.27±0.29	2.15	7.63	2.03 ^{ns}
AC + AD	20	24.2-30.6	27.90±0.43	1.94	6.98	
VCM						
Normais	75	68.2-95.5	86.98±0.53	4.65	5.35	
AS	55	65.6-95.8	84.01±0.78	5.83	6.94	8.03 ^{***}
AC + AD	20	73.6-89.4	82.83±1.10	4.92	5.94	
CHCM						
Normais	75	30.3-36.3	33.10±0.09	0.81	2.45	
AS	55	30.1-35.3	33.44±0.12	0.94	2.84	4.82 ^{**}
AC + AD	20	32.5-34.6	33.68±0.12	0.56	1.69	

F = quociente da variância pelo erro.

** p<0.01

*** p<0.001

ns = não significativa

O teste de eletroforese em pH alcalino mostrou-se representativo para diferenciar doadores normais e doadores com hemoglobinopatias quando analisado pelo Teste Exato de Fisher com $p < 0.001$.

A tabela 5 apresenta como altamente significativa a diferença entre doadores normais e com hemoglobinopatias através da positividade do Teste de Solubilidade, analisada pelo Teste Exato de Fisher com $p < 0.001$.

Tabela 5. Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias e a positividade no teste de solubilidade.

Grupos	Teste de solubilidade		Total
	+	-	
normais	0	75 (50%)	75 (50%)
Hemoglobinopatias*	55 (37%)	20 (13%)	75 (50%)
Total	55 (37%)	95 (63%)	150 (100%)

Teste Exato de Fisher: $p < 0.001$

*Exceto sugestivo beta-talassemia

Dentro da amostra analisada, as proporções entre os indivíduos com hemoglobinopatias AS e a positividade do teste de Solubilidade é maior do que a proporção de indivíduos com as hemoglobinopatias AC + AD e a positividade do mesmo teste (Teste Exato de Fisher com $p < 0.05$).

A tabela 6 apresenta como altamente significativa a diferença entre doadores normais e com hemoglobinopatias através da positividade do Teste de Falcização, analisada pelo Teste Exato de Fisher com $p < 0.001$.

Tabela 6. Proporções de indivíduos normais e com hemoglobinopatias e a positividade no teste de falcização.

Grupos	Teste de falcização		Total
	+	-	
normais	0	75 (50%)	75 (50%)
Hemoglobinopatias*	17 (11%)	58 (39%)	75 (50%)
Total	17 (11%)	133 (89%)	150 (100%)

Teste Exato de Fisher: $p < 0.001$

*Exceto sugestivo beta-talassemia

A tabela 7 apresenta uma diferença significativa entre doadores com hemoglobinopatias AS e AC+AD, testados através do Teste de Falcização e analisados pelo Teste Exato de Fisher, com $p < 0.01$.

Tabela 7. Proporções de indivíduos com hemoglobinopatias e a positividade no teste de falcização.

Hemoglobinopatias	Teste de falcização		Total
	+	-	
AS	17 (23%)	38 (51%)	55 (73%)
AC + AD	0	20 (27%)	20 (27%)
Total	17 (23%)	58 (77%)	75(100%)

Teste Exato de Fisher: $p < 0.01$

Dentre os 1345 doadores de sangue analisados apenas 01 (0,1%) foi sugestivo de beta-talassemia, cujos valores encontrados foram: A_1 (88,3%), A_2 (7,2%), F(4,5%), Hm (6,26 milhões), Hb (12,3 g/dL), Ht (40%), VCM (63,0), HCM (19,7) e CHCM (30,8).

4. DISCUSSÃO

O Brasil caracteriza-se por significativa mistura racial, com grande influencia na dispersão de genes anormais, notadamente falcemias e talassemias. A distribuição das hemoglobinas normais está relacionada com os grupos raciais que participaram na formação da população de cada região (LEONELI *et al*, 2000).

Assim a heterogeneidade étnica da população brasileira, além de variações técnicas, dificulta a comparação dos resultados. No entanto, a Hb S está presente e foi a mais freqüente hemoglobinopatia nesse e em outros estudos. Existe, naturalmente, uma relação com o contingente de africanos que povoaram as diversas regiões (LISOT; SILLA, 2004).

A cor da pele dos doadores desse trabalho foi relatada durante a entrevista pelo mesmo pesquisador quando este convidava e orientava a participação dos doadores na pesquisa. Porém, de acordo com a análise estatística não há associação de hemoglobinas anormais entre os doadores de sangue do HEMOSE e a cor da pele ($p>0,05$), este fato também foi observado no trabalho de Orlando *et al*, 2000.

Os dados obtidos pela eletroforese de hemoglobina, teste de falcização, teste de solubilidade e HPLC sugerem que cerca de 5,6% dos doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe são portadores assintomáticos de hemoglobinopatias. Sendo 4,1% de Hb AS, 1,4% de Hb AC e 0,1% de Hb AD. Esses resultados descrevem uma população de doadores de sangue em Sergipe compatíveis aos encontrados por Naoum (2000) em estudos da hemoglobina S onde mostraram que a prevalência do traço falciforme é maior nos Estados do Nordeste, como é o caso da Bahia onde 5,5% da população doadora de sangue é Hb AS, e em

diversos estudo na região Nordeste como é o caso do Hemocentro de Alagoas (HEMOAL) numa população de 21.968 doadores de sangue, foram detectados 453 (2,06%) portadores do Traço Falcêmico, portanto para cada 48 doadores 01 é portador do estigma falcêmico (GOMES, 2005). No Rio Grande do Norte, foram estudados 630 doadores do Núcleo de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, e os autores encontraram 15 (2,38%) indivíduos com hemoglobinas anormais; a prevalência de Hb AS foi de 2,22% E Hb AC em torno de 0,16% (BEZERRA; ALBUQUERQUE; ANDRADE,1991).

No estudo feito por Melo *et al* (2000) em 23.981 doadores de sangue de Uberlândia, Minas Gerais, e cidades subjacentes, os autores encontraram 820 (3,42%) portadores de hemoglobinopatias, onde a Hb AS foi encontrada em maior prevalência (2,48%) quando comparadas com as outras hemoglobinopatias, o mesmo fato foi encontrado em estudo por Tavares e Bernardes (1980) em 483 doadores de sangue do Centro de Hematologia de Sobradinho (Distrito Federal) a frequência de Hb AS foi a predominante (2,96%) e no Hemonúcleo da Universidade São Francisco, na cidade de Bragança Paulista, São Paulo, onde foi realizado um estudo em 1.846 doadores, desses 1,13% foram Hb AS, demonstrado predominância de doadores AS em bancos de sangue do Brasil. (ACEDO *et al*, 2002).

A presença de hemácias contendo Hb S em doadores de sangue brasileiros é representativa, chegando a 2,4% caracterizando a necessidade potencial da sua detecção laboratorial a nível de triagem. A transfusão destas hemácias pode resultar em efeitos indesejáveis, tanto pela possibilidade de falcização no receptor, como pelas alterações do produto hemoterápico durante o processamento e estocagem (COMENALLI - MARQUES,1994).

Bodensteiner, 1994, relatou e Ould Amar e cols, 1997 corroboraram que sangue de doadores AS, quando submetido a filtro de leucócitos, tem velocidade de filtração menor que o sangue AA e a eficiência na retenção de leucócitos é muito menor que no sangue sabidamente AA, podendo ainda ocorrer obstrução nestes filtros (PRUDENCIO;COVAS;BONINI-DOMINGOS, 2000). Embora existam diversas hipóteses explanatórias à respeito da polimerização intracelular da Hb S, evidências demonstram que esse fenômeno é responsável para falhas do filtro para a redução do leucócito (BYRNE *et al*, 2003).

Orlando et al (2000) desenvolveu um estudo no Laboratório de Hemoglobinas da Universidade Estadual de São Paulo, de São José do Rio Preto, São Paulo, em 262 amostras de doadores de sangue, 5 (1,90%) com suspeita de alfa talassemia, 1 (0,38%) com suspeita de beta talassemia e 2 (0,76%) com outros tipos de hemoglobinas. Lisot e Silla (2004) realizaram um estudo no Hemocentro Regional de Caxias do Sul e na população do estudo, foram encontrados em 11,68% dos indivíduos afetados, desses, 0,16% tinham Hb AC, 0,99% com possível alfa talassemia, 0,99% com Hb AS e 9,87% sugeriam beta-talassemia.

A baixa prevalência de talassemias no presente estudo (0,1% sugestivo de beta-talassemia) se justifica pela presumível composição étnica da população dos doadores, além de a seleção dos doadores aptos naturalmente exclui indivíduos anêmicos.

O método amplamente utilizado para o diagnóstico das hemoglobinopatias é a eletroforese em acetato de celulose, pH alcalino, uma vez que as análises podem ser efetuadas com rapidez e baixo custo. No entanto, não permite a distinção de Hb com co-migração, como a que migra em posição semelhante à Hb S, a Hb D. Portanto, é indicada como teste de rastreamento inicial para a detecção de Hb

variantes, e metodologias complementares devem ser realizadas para a caracterização das hemoglobinas com migração semelhante (ONDEI; ZAMARRO; BONINI-DOMINGOS, 2005).

Neste trabalho verificou-se que as variantes não puderam ser identificadas apenas pelos métodos eletroforéticos usuais, estes diferenciaram bem os doadores normais com os que apresentaram algum tipo de hemoglobinopatia, porém foi necessária a utilização de outras técnicas como o teste de solubilidade e teste de falcização para confirmação principalmente da Hb S. Evidenciou-se a dificuldade de interpretação das Hb variantes, principalmente daquelas que migraram em posição semelhante à Hb S em pH alcalino e que poderiam ter sido identificadas incorretamente apenas com a aplicação dessa metodologia.

As presenças de VCM diminuídos no presente trabalho podem ser interferências de casos de esferocitose hereditária, assim como os valores de CHCM baixo pode significar ferropenia, porém não foi possível excluir esses dados da pesquisa.

O teste de solubilidade apresenta boa sensibilidade para a triagem de Hb S com eficácia de 99,8% na identificação desta hemoglobina, oferecendo ainda custo mais baixo do que a eletroforese bem como fácil aplicação (WARREN *et al*, 1975). Obtivemos neste um resultado de 100% de compatibilidade o que nos deu segurança no uso do teste de solubilidade para a triagem de doadores com Hb AS.

O teste de falcização é usado largamente, porém sua sensibilidade depende de vários fatores como: tipo de agente redutor, tempo de reação, temperatura, umidade, vedação. É uma avaliação apenas qualitativa que indica, quando positiva, a presença de Hb S nos eritrócitos (PRUDÊNCIO, COVAS, BONINI-DOMINGOS, 2000).

A diferença entre doadores normais e com hemoglobinopatias através da positividade do Teste de Falcização no presente trabalho foi considerada como altamente significativa através de análise estatística ($p < 0.001$).

A HPLC é considerada uma técnica altamente sensível para o estudo de hemoglobinas anormais porque evidencia pequenas quantidades de Hb A, bem como Hb S, Hb C e outras hemoglobinas anormais, na presença de grandes quantidades de Hb F. Os sistemas automatizados proporcionam um processamento rápido das amostras com alto índice de reprodutibilidade e exatidão, constituindo-se num excelente método para triagem de hemoglobinopatias neonatal, porém, em bancos de sangue deve ser utilizada como confirmatório dos testes de *screening*, e não para a triagem devido o elevado custo que seria para a implantação da técnica (OU; ROGNERUD, 2001).

Todas as amostras desse trabalho que apresentaram algum tipo de hemoglobinopatia foram quantificadas pelo método do HPLC.

Para os resultados encontrados neste trabalho, a associação das análises cromatográficas aos resultados eletroforéticos foram importantes no levantamento das prováveis Hb variantes, bem como a utilização de testes mais simples como solubilidade e falcização.

5. CONCLUSÕES

1. Entre os doadores de sangue analisados 5,6% eram portadores de hemoglobinopatias assintomáticas.
2. Entre as hemoglobinopatias assintomáticas detectadas, 73,2% incluíam Hb S.
3. Das cinco técnicas utilizadas para o diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias desse trabalho:
 - Os índices hematimétricos: VCM e CHCM mostraram-se bons discriminadores para portadores assintomáticos de hemoglobinopatias.
 - A técnica de eletroforese em pH alcalino apresentou-se adequada quando analisada como teste para identificação de doadores normais e com hemoglobinopatias, portanto, é indicada como teste de rastreamento inicial para a detecção de Hb variantes.
 - Os testes de solubilidade e teste de falcização foram considerados adequados para a diferenciação entre doadores normais e com hemoglobinopatias por serem de fácil execução, baixo custo e boa sensibilidade.
 - A HPLC constituiu-se um método adequado como confirmatório para hemoglobinopatias por permitir fracionar e quantificar as Hb variantes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEDO, M.J.; COSTA,V. A.; POLIMENO, N. C.; BERTUZZO,C. S. Programa comunitário de hemoglobinopatias:abordagem populacional a partir de doadores de sangue de Bragança Paulista. São Pulo, Brasil. **Cad.Saúde Pública**, São Paulo.2002, (6):18.

ARAUJO, M C P E; SERAFIM, E S S ; CASTRO, W A P J; MEDEIROS, T M D.Prevalência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos da cidade de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2004; 20 (1): 123-128.

BAYSAL, E.; HUISMAN, T.H.; Detection of common alpha-thalassemia-2 determinants by PCR. **Am. J. Hematol.**, 46 (3), 1994, p.208-213.

BEZERRA, T. M. M; ALBUQUERQUE, L. M. M; LIMA, A. A. B; ANDRADE, S. R. Prevalência de hemoglobinas anormais em Natal, Rio Grande do Norte. **Rev.bras.anal.clin**;1991;23(3):73-6.

BONINI-DOMINGOS, C.R.;NAOUM, P.C. Genética molecular das hemoglobinas. In: NAOUM, P.C. (eds.). **Hemoglobinopatias e Talassemias**. São Paulo: Sarvier, 2001, p. 26-30.

BONINI-DOMINGOS, A.C; VIANA-BARACIOLI,L.M.S; BONINI-DOMINGOS, C.R. Identificação de variantes de hemoglobina em doadores de sangue. **Rev. Brás. Hematol. Hemoter**: 2004; 26(1):57-59.

BRASIL. **PORTARIA RDC N. 343**. Aprova regulamento técnico para a obtenção, testagem, processamento, e controle de qualidade de sangue e hemocomponentes para uso humano. Diário Oficial da União 2002; 13 dez.

BRASIL. **PORTARIA RDC N. 153**. Aprova regulamento técnico dos Serviços de Hemoterapia. Diário Oficial da União 2004; 14 de jun.

BYRNE,K M; LEITMAN, S F; SCHECHTER, A N; STRONCEK , D F. Increasing oxygen tension improves filtration of sickle trait donor blood. **British Journal of Haematology**, 2003, 122, 678–681.

CANÇADO, R D., CHIATTONE, C S. LANGHI, D M. Iron deficiency in blood donors. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, 2001, vol.23, no.2, p.108-109.

CLARKE, G M.,HIGGINS,T N. Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update. **Clinical Chemistry**,2000. 46:8(B)1284–1290 .

COCHRAN, W.G. **Sampling Techniques** 3rd ed. New York, Jhon Wiley & Sons, 1977.

COMENALLI - MARQUES, J.F. Transfusão de hemácias contendo hemoglobina S. **Bol. Soc.Bras. Hematol. Hemoter**;1994 :16 (166)229-232.

COMPRI, M.B. POLIMENO, N. C. ;STELLA, M. B. & RAMALHO, A. S. Programa comunitário de hemoglobinopatias hereditárias em população estudantil brasileira. **Revista de Saúde pública**,1996; 30:187-195.

COSTA, F.F. **Anemia Falciforme**. In: Hematologia : Fundamentos e Prática. São Paulo. Ed Atheneu, 2001.p: 289-307.

DAUDT, L.E.; ZECHMAISTER, D.; PORTAL, L.; CAMARGO NETO, E.; SILLA, L.M.R.; GIUGLIANI, R. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**,2002; 18 (3), p.833-841.

DINIZ, D., GUEDES,C. Confidencialidade, aconselhamento genético e saúde pública: um estudo de caso sobre o traço falciforme. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro,2005; 21(3):747-755.

DINIZ, D., GUEDES, C., TRIVELINO, A. Educação para a genética em saúde pública: um estudo de caso sobre a anemia falciforme.**Ciência & Saúde Coletiva**. 200510(2): 365-372.

ELGHETANY, M.T. & DAVEY, F.R.,Doenças eritrocitárias.*In*: Henry, J. B. et al. (eds.) 19. ed. **Diagnóstico Clínico e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. São Paulo: ed. Manole, 1999.

FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação**. 3 ED, Porto Alegre, Artes médicas Sul, 1995.

FIGUEIREDO, M.S. **Efeitos da talassemia α e dos haplótipos do complexo da globina β nas alterações clínicas e laboratoriais da anemia falciforme no Brasil**, São Paulo, 1993. Tese (Doutorado) Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo,79p.

FLINT, J.; HARDING, R.M.; BOYCE, AJ.; CLEGG, J.B. The population genetics of haemoglobinopathies. **Baill. Clin. Haem.**,1993; 6 (1), p.215-262.

FOGLIETTA, E.; DEIDDA, G.; GRAZIANI, B.; MODIANO,G.; BIANCO, I. **Detection of α -globin gene disorders by a simple PCR methodology**. *Haematologica*,1996; v.81, p.387-396.

FUCHAROEN, S.,WINICHAGOON, P. Thalassemia and Abnormal Hemoglobin. **International Journal Hematology**,2002;76 .

GOMES, M. Prevalência do Traço Falcêmico em Doadores de Sangue do Hemocentro de Alagoas – HEMOAL. **Rev. Laes & Haes**, 2005;nº 115p. 147-154.

GUERRA-SCHINOHARA, E.M.; ANDREGUETTO, A. A.; PAGLIUSI, R.A.; D'ÁVILA, V.L.B. Importância dos parâmetros: amplitude de variação do tamanho dos eritrócitos (RDW) e dos histogramas de distribuição de volumes celulares no diagnóstico das anemias. **NewsLab**, 1999; n.35, p.118-125.

HUTCHISON R. E.; DAVEY, F.R. Hematopoiese. In: HENRY, J.B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole; 1999a. p. 594-616.

ITANO HA, NEEL JV. A new inherited abnormality of human hemoglobin. Proc Natl Acad Sci U S A. 1950; 36 (11), 613-617.

LEONELI, G.G.; IMPERIAL, R.E.; MARCHI-SALVADOR,D.P.; NAOUM,P.C.; BONINI-DOMINGOS, C.R. Hemoglobinas anormais e dificuldade diagnóstica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2000;22, (3), p.396-403.

LEPP, A.C.; BLUESTEIN, B.I. **Hemoglobin electrophoresis at alkaline pH on agarose gels**. Clinical Chemistry,1978; v.24, n.6, p.936-937.

LISOT, C.L.A., SILLA, L.M.R.; Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana. **Cad. de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2004,20(6):1595-1601.

LUKENS, J.N. Hemoglobinopatias S, C, D, E & O e doenças associadas. In: LEE, G.R.; BITHELL, T.C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J.W.; LUKENS, J.N. (eds.). **Wintrobe Hematologia Clínica**. São Paulo: Manole,1998;(1) p. 1161-1205.

LYRA, I.M.; GONÇALVES M. S.; BRAGA, J. A. P. GESTEIRA, M.F.; CATVALHO, M.H.; SAAD, S.T.O.; FIGUEIREDO, M.S.; COSTA, F.F. Clinical, hematological, and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2005. 21(4): 1287-1290.

MARENGO-ROWE, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobins on cellulose acetate. **J. Clin. Path.**, 1965,18 (6), p. 790-792.

MAZZI, M.M., TEIXEIRA, R. C., MAGNA, L. A. *et al*. Aumento de fertilidade como eventual mecanismo de manutenção das altas freqüências de hemoglobinopatias no Brasil. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, 2003, 39 (4), p.289-294.

MELO, S M A, ARANTES S C F, BOTELHO F A, ROCHA A F S. Prevalência de hemoglobinopatias em Doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia MG. **Rev. Brás. Hematol Hemoter** 2000; 22 Suppl:51.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Manual de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Falciformes. Brasília: **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2002.

MINISTERIO DA SAÚDE (Brasil): **Portaria nº 1.391** de 16 de Agosto de 2005.

MINISTERIO DA SAÚDE (Brasil): <http://www.anvisa.gov.brhtm> Acesso em: 21 set. 2005.

MOLLISON, P. L., **Blood transfusion in Clinical Medicine**. Oxford: Blackwell, 1972.

MOLTENI, S.; FRISCHNECHT, H.; THORMANN, W. Application of dynamic capillary isoelectric focusing to the analysis of human hemoglobin variants. **Electrophoresis**, 1994;15 (1), p.22-30.

MOHAMMAD, A.A.; OKORODUDU, A.O.; BISSEL, M.G.; DOW, P.; REGER, G.; MEIER, A.; GUODAGNO, P.; PETERSEN, J.R. Clinical application of capillary isoelectric focusing on fused silica capillary for determination of hemoglobin variants. **Clinical Chemistry**, 1997; 43 (9), p.1798-1799.

NAGEL, R.L., FABRY, M. E. PANGINIER, J. Hematologically and genetically distinct forms of sickle cell anemia in Africa. **N. Engl. J. Med.**, 1989; 312: 880-884.

NAOUM, P.C. **Eletroforese técnicas e diagnósticos**. São Paulo: Santos, 1999.

NAOUM, P. Prevalência e controle da hemoglobina S. **Rev. Brás. Hematol Hemoter** 2000;22:142-8.

NAOUM, P.C. Distribuição Geográfica das hemoglobinopatias In: NAOUM, P.C. (eds.). **Hemoglobinopatias e Talassemias**. São Paulo: Sarvier, 2001, p. 137-142.

NAOUM, P.C.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Técnicas Laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais In: NAOUM, P.C. (eds.). **Hemoglobinopatias e Talassemias**. São Paulo: Sarvier, 2001, p. 144-171.

NAOUM, P.C.; ALVAREZ, F.; DOMINGOS, C.R.B.; FERRARI, F.; MOREIRA, H.W.; SAMPAIO, Z.A.; MAZIERO, P.A.; CASTILHO, E.M. Hemoglobinas anormais no Brasil. Prevalência e distribuição geográfica. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, 1987; v.23, p.68-79.

NUZZO, D V P, FONSECA, S F. Anemia Falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**. 2004; 80(5) :347-354.

OLD, J. M. Sreening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders. **Blood Rev**; 2003;17(1):43-53.

OLD, J.; TRAEGER-SYNODINOS, J.; GALANELLO, R.; PETROU, M.; ANGASTINIOTIS M. Prevention of Thalassaemias and other Haemoglobin Disorders. *Thalassaemia. **International Federation Publications**. *v. 2, 2005, 183 p.

OLIVIERI, N.F. The beta-thalassemsias. **N Engl J Med**. 1999;341(2):99-109.

ONDEI, L S, ZAMARO,P J A, BONINI-DOMINGOS,C R. A importância do diagnóstico laboratorial clássico na Identificação de variantes de hemoglobinas. **Rev.Bras. hematol. Hemoter**:2005 27(1): 72-74.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Ejecución de acciones de salud em genética**; informe de um Comitê de Expertos em Genética Médica.Habana, Cuba,1987.

ORLANDO, G.M.; NAOUM, P.C.; SIQUEIRA,F. A. M.; BONINI-DOMINGOS,C. R.. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. **Rev. Brás. Hematol. Hemoter**. 2000;22 :111-121. São José do Rio Preto.

OSKI, F. A.; NAIMAN, J. L.. **Hematologic Problems in the Newborn**. Philadelphia: Saunders, 1972.

OU, C. N, ROGNERUD C. L. Diagnosis of hemoglobinopathies: electrophoresis vs. HPLC. **Clinica Chimica Acta** ,2001. 313: 187–194.

PAIVA E SILVA,R.B.; RAMALHO,A.S.;CASSORLA,A.R.M.S.,Anemia falciforme como problema de saúde pública no Brasil.**Rev. de Saúde Pública**, 1993; 27:54-58.

PAIVA E SILVA, R. B.; RAMALHO, A.S. Risco e benefício da triagem genética: O traço falciforme como modelo de um estudo em uma questão brasileira. **Cad. De Saúde Pública**, 1997,13, p:285-294.

PAULING, L., ITANO, H A ., SIGNER, S. J. *et al*: Sickel cell anemia. A molecular disease. **Science** 1949; 110:543.

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. Brás. Hematol. Hemoter**.2000; 22 (2) São José do Rio Preto.

RAMALHO, A.S. Hemoglobina S em doadores de sangue brasileiros.**Revista da Associação Médica Brasileira**, 1976;22:467-468.

RAMALHO, A. S. **As Hemoglobinopatias Hereditárias - Um Problema de Saúde Pública no Brasil**. Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética, 1986.

RAMALHO, A. S., MAGNA, L. A., PAIVA-E-SILVA, R. B.; A Portaria no 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 2003;19(4):1195-1199.

RAMALHO, A.S., PAIVA E SILVA, R.B., TEIXEIRA, R.C.;COMPRI, M.B.. Triagem de hemoglobinopatias: resposta de uma comunidade brasileira a programas opcionais. **Cad. Saúde Pública**. 1999, 15 (3), p.591-595.

RAZOUK, F H; REICHE,E M. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais Hemocomponentes. **Rev. bras. hematol. hemoter**. 2004; 26(2):126-134

RIBEIRO, V.S.; ARAÚJO, J.T. Hemoglobin H: laboratory identification. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**,1992; 47 (4), p.176-179.

ROBBINS, S. L.;CONTRAN, R. S.;KUMAR, V.;SCHOEN, F.J. **Doenças das hemácias e Distúrbios Hemorrágicos- Patologia Estrutural e Funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p: 526-576.

ROBBINS, S L. - COTRAN, R S. - KUMAR, V - COLLINS, T.; . **Patologia estrutural e funcional**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 6ª Ed., 2001.

SALZANO, F. M. Em busca das raízes. **Ciências Hoje**; 1986; 5:48-53.

SALZANO, F.M.; BORTOLINI, M.C. Hemoglobin types and hemoglobinopathies. In: SALZANO, F.M.; BORTOLINI, M.C. **The evolution and genetics of Latin America population**. Cambridge: Cambridge University Press ,2002. p.215-254.

SCHNEIDER, R G, HIGHTOWER, B. HOSTY, T S. *et al*: Abnormal hemoglobins in a quarter million people. **Blood** 1976: 48-629.

SCHNOG,J.B; DUIJS,A.J; MUSKIET,F A J;TEN CATE, H; ROJER, R A ;BRANDJES, D P M. Sickle cell disease; a general overview.**The Journal of Medicine**, 2004 (60):10.

SKOGESBOE, K.; WEST, S.; MURILLO, M.D.; GLASS, M.W.; SHANAK, S.; TAIT, J.F. Genetic screening of newborns for sickle cell disease: Correlation of DNA analysis with hemoglobin electrophoresis. **Clinical Chemistry**, 1991;37 (3), p.454-458.

SOUZA, WC;TORRES, F R; SALVADOR, A R ; TÁVORA, J A; MACHADO, L R D, BONINI-DOMINGOS, CR. Avaliação de Hb A₂ e Hb F em doadores de sangue de Região Malarígena da Amazônia Oriental Brasileira por HPLC. **Rev. Brás. de Hematol. Hemoter**, 2003;25(4): 263-266.

STEINBERG, M. H. Pathophysiology of sickle cell disease. In: **Sickle cell disease and thalassaemia**. Editor: G. P. Rodgers, London, Balliere Tindall Ed., 1998, 168.

STEINBERG, M. H.; EMBURY, J. Alpha thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with sickle hemoglobin gene. **Blood**, 1986; 68: 985-990.

TAVARES,N; BERNARDES, R.Hemoglobinas anormais em doadores de sangue do Sobradinho, Distrito Federal. **Rev. Brás. Anal. Clin**;1980: 12:55-60.

TEIXEIRA, A. F.; LIMA, A. B. de; GOMES, V. B. A.F. Prevalência de hemoglobinas em gestante do Hospital e maternidade Dr. César Calls - Fortaleza: **NewsLab**. ed 46, 2001.

THOMPSON, M. W., MCINNES, R.R.,WILLARD, H.F. **Genética médica** 5ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan,1993.

TORRES, F.A.; BONDUEL, M.; SCIUCCATI, G.; DEL POZO, A.; ROLDÁN, A.; CIACCIO, M.; ORAZI, V.; FANO, V.; OZUNA, B.; LEJARRAGA, H.; MURIEL, S.F. Beta talassemia mayor en la Argentina. **LILACS Medicina** (Buenos Aires), 2002;62 (2), p.124-134.

TWAS (THIRD WORLD ACADEMY OF SCIENCES).Final Report: **South north round table on hemoglobinopathies**, Trieste, 1986.

VERAS, M.S.; COELHO, S. B. V.; SOUSA, J.; CARDOSO, L.; SANTOS, J. F. Prevalência do traço falciforme em doadores de sangue do Distrito Federal. **Rev. saúde Pública**. Dist. Fed;1998;9(1):9-12.

VIANA-BARACIOLI, LMS; BONINI-DOMINGOS,C R; PAGLIUSI, R A ; NAOUM, P C ; Prevenção de hemoglobinopatias a partir de estudo em gestantes. **Rev brás. Hematol. Hemoter.**, 2001; 23(1): 31-39.

WAGNER, S.C. **Identificação de talassemia alfa e outras hemoglobinopatias no Hospital de Clínicas de Porto Alegre**. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica, Porto Alegre: UFRGS, 2002.

WARREN, B.; CRASBY, G.; EVANS, G. L. A new rapid differentiating solubility test for hemoglobin S. **American Journal of Medical Technology**, 1975;41 (9),317-321.

WEATHERALL, D.J. e CLEGG, J.B. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. **Bull. World Health Organ.**, 2001, 79 (8), p.704-712.

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Community control of hereditary anaemias. Memorandum from a WHO meeting Bull. **World Health Organ.**, 1983;61:63-80.

WENNING, M.R.S.C.; KIMURA, E.M.; COSTA, F.F.; SAAD, S.T.O.; GERVÁSIO, S.; de JORGE, S.B.; BORGES, E.; SILVA, N.M.; SONATI, M.F. α -Globin genes: thalassemic and structural alterations in a Brazilian population. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 2000;33 (9), p.1041-1045.

ZAGO, M.A.; COSTA, F.F.; BOTTURA, C. Hemoglobin H disease in three Brazilian families. **Revista Brasileira de Genética**,1984; 7 (1), p.137-147.

ZAGO, M.A.; PAÇÓ-LARSON, M.L. Hemoglobin H disease caused by two gene deletions. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 1989; 22 (6), p.675-681.

ZAGO, M. A.; Estrutura, Síntese e Genética das Hemoglobinas. In: **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo. Ed Atheneu, 2001, p: 269-277.

ZAMARRO, P.J.A., CANALLI, A.A., JUNIOR, W.A.S., BONINI-DOMINGOS, C.R. Diagnóstico Laboratorial de hemoglobinas semelhantes a Hb S. **Jornal Brás. De Pat. e Méd. Laboratorial**. Rio de Janeiro, 2002;38 (4), p.261-266.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)