

ARTIGO ORIGINAL

Triagem neonatal para hemoglobinopatias em municípios da região Oeste do Estado de São Paulo

Neonatal selection for hemoglobin's pathology in cities on west region of São Paulo state

Tiago Pultrini¹; Karla Panice-Pedro²; Rosana Rossi-Ferreira³

Docente do Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências -UNESP, Campus de Bauru¹, Farmacêutica-Bioquímica, MS, responsável pelo Laboratório de Triagem Neonatal APAE-Bauru², Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências - UNESP, Campus de Bauru³.

Resumo A patologia e efeitos correlatos de diferentes mutações na molécula de hemoglobina têm sido motivo de numerosos estudos e análises populacionais. O Estado de São Paulo (SP) recebeu influência de africanos e povos de origem mediterrânea propiciando o aparecimento de hemoglobinas (Hb) anormais como as Hb S e C. A situação de homozigose tanto para Hb S (SS) como para Hb C (CC) tem como consequência doenças de alta mortalidade e morbidade. A Triagem Neonatal regulamentada no Brasil em 2001 (Portaria 822 de 6/6/01) permite detectar portadores de variantes hemoglobínicas ao nascer, na tentativa de estabelecer, precocemente, protocolos de tratamento e aconselhamento genético. Sendo assim, o objetivo do trabalho é verificar a frequência de Hb anormais na população da região oeste de SP. Amostras de sangue de recém-nascidos (RN) foram coletadas de 359 Centros de Saúde pertencentes a 168 municípios desta região foram encaminhadas à APAE-Bauru. O método utilizado foi focalização isoelétrica, aplicando-se o sangue em gel de agarose contendo anfólitos. Foram analisadas 72.510 amostras no período de 11/2001 a 09/2003 e os resultados demonstraram que 96,9 % dos RN não apresentaram variantes hemoglobínicas. A Hb Fetal (F) esteve presente em mais de 90 % dos RN analisados, pois se trata de importante componente hemoglobínico da vida intra-uterina, persistindo cerca de 6 meses pós-nascimento. Das amostras analisadas, 2.247 mostraram perfil eletroforético alterado: 1.707 (2,35%) apresentaram fenótipo AS/FAS; 521 (0,72%) AC/FAC; 16 (0,022%) SC/FSC; 03 (0,004%) SS/FS; 30 pacientes apresentaram fração indeterminada e/ou inconclusiva, nos quais a investigação deverá ter continuidade após o 6.o mês, bem como o levantamento do perfil hemoglobínico de suas famílias.

Palavras-chave Hemoglobina, Triagem Neonatal, Aconselhamento genético, Focalização isoelétrica.

Abstract The pathology and effect correlates of different mutations in the hemoglobin molecule have been the reason of numerous studies and population analyses. Sao Paulo state (SP) received influence from Africans and Mediterraneans propitiating the appearance of abnormal hemoglobin's (Hb) as Hb S and C. The homozygous situation either the Hb S (SS) or the Hb C (CC) results illness of high mortality and morbidity as a consequence. The Neonatal Selection regulated in Brazil in 2001 (Governmental decree 822 - 6/6/01) allows detecting carriers of hemoglobin variants to the rising, in the attempt to establish precociously, protocols of treatment and genetic advice. Being thus, the objective of the work is to verify the frequency of abnormal Hb in the center-west of SP. Blood samples of newborn had been collected in 359 Centers of Health the 168 cities of this region and had been directed to the APAE-Bauru. The used method was iso-electric focalization applying the blood in agar gel contend ampholyte. A total of 72,510 samples were analyzed in the period from 11/2001 to 12/2003, and the results demonstrated that 96.9 % of the newborns had not presented hemoglobin variants. The Fetal Hb (F) was present in more than 90 % of the newborns analyzed, therefore it is an important hemoglobin component in intrauterine life, persisting about 6 months after-birth. The analyzed samples 2,247 showed modified electrophoresis profile: 1,707 (2.35%) presented phenotype AS/FAS; 521 (0.72%) phenotype AC/FAC; 16 (0.022%) phenotype SC/FSC; 03 (0.004%) phenotype SS/FS. A total of 30 patients had presented inconclusive and/or undetermined fraction, thus the investigation must continue in relation to these patients after the 6th - month birth, as well as the survey of the hemoglobin profile of their families.

Keywords Hemoglobin, Abnormal hemoglobin's, Neonatal screening,

Introdução

O processo normal de maturação das hemoglobinas com a substituição das hemoglobinas embrionárias pelas adultas já fornecem um modelo bastante adequado para o estudo dos mecanismos de diferenciação na espécie humana (1). A hemoglobina é uma proteína globular, oligomérica, responsável pelo transporte de oxigênio (2). Quimicamente é formada à partir da combinação de quatro moléculas ou radicais heme com uma proteína, a globina. Durante a vida fetal, a hemoglobina F apresenta-se em elevadas concentrações e desaparece gradualmente durante o primeiro ano de vida, sendo substituída pela hemoglobina A.

As alterações da hemoglobina são conhecidas como hemoglobinopatias, como por exemplo, a anemia falciforme (Hb S) (1). A proporção de indivíduos cujas hemácias se tornam falciformes pela baixa tensão de oxigênio são encontradas preferencialmente em negróides, atingindo um a cada 500 indivíduos da raça negra. A hemoglobina S não é exclusiva desse grupo racial, aparecendo também em populações não negróides da região do Mediterrâneo, Índia e Ásia Menor. Em decorrência da composição étnica da população brasileira, as hemoglobinopatias são muito frequentes no Brasil, devido à influência e imigração dos povos africanos, portugueses e os de origem mediterrânea. O Estado de São Paulo, por exemplo, apresenta um contingente populacional com grande frequência de hemoglobinopatias como as Hb S e C, tendo em vista tal composição étnica.

A Doença Falciforme caracteriza-se pela presença predominante de hemoglobina S que tem a propriedade de formar polímeros desoxigenados. O indivíduo pode ser homocigoto (SS) ou heterocigoto (AS) para a presença de hemoglobina S. O tema anemia falciforme é reservado para a forma de doença que ocorre nos homocigotos (SS). Os indivíduos heterocigotos (AS) são, portanto, assintomáticos (3). O estado de homocigose tanto para Hb S (SS) como para Hb C (CC) possui como conseqüência alta incidência de morbidade e mortalidade associada à manifestações clínicas de gravidade variável. É importante a avaliação da quantidade encontrada de hemoglobina anormal, pois esta define se o indivíduo será somente portador ou se poderá apresentar a anemia como doença; além de contribuir para um possível acompanhamento e aconselhamento genético podendo evitar problemas futuros.

A Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde regulamentou o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) dando relevância à saúde pública no Brasil (4). A Triagem Neonatal permite então, detectar os portadores de variantes hemoglobínicas ao nascer propiciando precocemente o tratamento.

O presente trabalho objetiva verificar a frequência de hemoglobinas anormais na população que abrange 168 municípios da região Oeste do Estado de São Paulo.

Material e Método

O material de estudo foi constituído por amostras de sangue de recém-nascidos (RN) coletadas em papel filtro em 359 Centros de Saúde e postos de coleta pertencentes a 168 municípios da região Oeste Paulista. As amostras foram encaminhadas à APAE Bauru para a realização dos testes. Foram analisadas 72.510 amostras no período de 11/2001 a 09/2003.

Cada amostra foi devidamente classificada através de um Registro Geral (RG) e outras informações como data de nascimento e presença de transfusões sanguíneas. No presente trabalho teve-se o cuidado de não considerar os casos de reconvocação.

O método utilizado para a detecção das hemoglobinas foi a da focalização isoelétrica (Perkin Helmerâ). As amostras de sangue foram aplicadas em gel de agarose contendo anfólitos que, juntamente com a hemoglobina e sob corrente elétrica, migraram até atingirem seus pontos isoelétricos.

O uso de um software (ISOCAN- Perkin Helmerâ) auxiliou o controle das informações obtidas após a focalização isoelétrica.

As amostras com escassez de dados foram submetidas a reconvocação do paciente para nova coleta. Outros casos como resultados inconclusivos ou indeterminados também foram reconvocados.

Resultados e Discussão

A figura abaixo mostra o Estado de São Paulo dividido em 40 microrregiões. Dentre as microrregiões representadas, 14 foram objeto de nosso estudo através da coleta de sangue de recém-nascidos para investigação de hemoglobinopatias. Assim, podemos observar que este estudo cobre aproximadamente 35% dos municípios do Estado de São Paulo (Figura 1).

Do ponto de vista genético, bioquímico e molecular, o conhe-

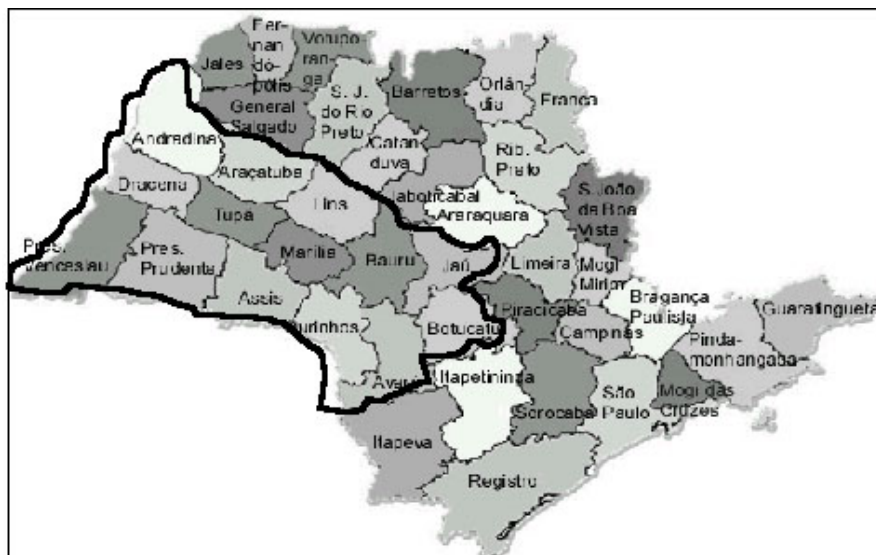


Figura 1 – Mapa do Estado de São Paulo dividido em microrregiões. As regiões destacadas fizeram parte da investigação do perfil hemoglobínico em neonatos.

cimento das hemoglobinopatias torna-se importante, pois através do reconhecimento de sítios de mutação, faz o entendimento da morbidade e mortalidade destas patologias.

As hemoglobinopatias estão classificadas dentre as alterações genéticas mais frequentes nas populações humanas, afetando cerca de 250 milhões de pessoas em todo o mundo (1).

As alterações das hemoglobinas envolvem a síntese estrutural e quantitativa dos aminoácidos, que compõem as diferentes cadeias de globinas, bem como as moléculas e enzimas que participam da formação do grupo heme (5).

A síndrome falciforme é determinada por uma anomalia estrutural da cadeia β da molécula de globina, em que ocorre a substituição do ácido glutâmico do códon normal das bases nitrogenadas pela valina na sexta posição dessa cadeia resultando na hemoglobina S (Hb S) (6).

A Hb S teve origem na África e dispersou pelo mundo por meio da miscigenação dos povos. O processo de colonização influenciou fortemente a ocorrência desse gene anormal (7).

Na população brasileira, os genes para as hemoglobinas S e C foram introduzidos através dos escravos de origem africana, enquanto que os genes para talassemia, através dos colonizadores e imigrantes de origem mediterrânea (8).

A frequência das hemoglobinopatias observadas numa população varia nas dependências dos grupos raciais que colonizaram a região analisada (9). Mesmo assim, sabemos que tal frequência pode variar.

Na presente pesquisa observamos a frequência de hemoglobinopatias no rol das 72.510 amostras, onde 2.247 (3,1%) apresentaram perfil alterado (Figura 02).

A hemoglobina fetal (Hb F) esteve presente praticamente em

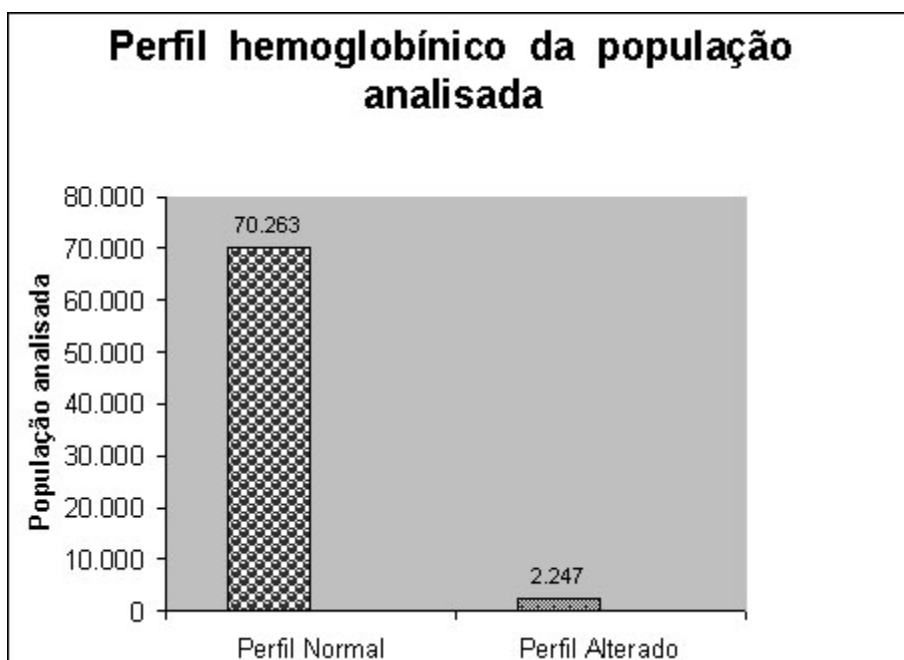


Figura 2 – Perfil hemoglobínico da população analisada

todos os recém-nascidos analisados, pois se trata de importante componente hemoglobínico até a substituição pela Hb A que acontece gradativamente até 6 meses pós-nascimento.

Das 2.247 com perfil eletroforético alterado, 19 foram consideradas patológicas; 2.228 não-patológicas e 30 consideradas indeterminadas ou inconclusivas (Figura 03).

As hemoglobinopatias não-patológicas encontradas foram heterozigóticas, tais como AS – 1.707 (76%) e AC - 521 (23,2%), como mostra a Tabela 01.

As hemoglobinopatias patológicas encontradas foram homozigotos SS – 03 (0,2%) e as heterozigotas por interação SC – 13 amostras (0,82%), como mostra a Tabela 02.

Verificamos que o tipo de hemoglobina anormal mais frequente foi a hemoglobina S, representada em maior porcentagem pelo fenótipo AS e em menor pelo SS (Tabela 03). A alta taxa de hemoglobina AS pode ter explicação no fato do baixo nível sócio-econômico onde a miscigenação parece ser maior.

Nas amostras analisadas (72.510), evidenciamos as seguintes porcentagens dos variantes hemoglobínicos: 2,35% (AS); 0,72% (AC); 0,022% (SC) e 0,004% (SS) (Tabela 03). As amostras consideradas inconclusivas (30) após reconvocação dos pacientes,

estes serão encaminhadas para testes complementares, inclusive com análises familiar. A frequência de heterozigotos do gene da hemoglobina S encontra-se na estimativa de muitos autores, concluindo que essa doença hereditária constitui um problema de saúde pública em nosso país (1).

Os indivíduos portadores do fenótipo SS e SC possuem inúmeras alterações fisiopatológicas, por isso a necessidade de tratamento adequado e intervenção precoce.

A expectativa de vida e o índice de mortalidade são similares ao da população em geral para o traço falcêmico (10). Porém, mesmo sendo considerados não-patológicos requerem acompanhamento clínico e em algumas situações intervenção terapêutica. Além disso, o aconselhamento genético poderá ser necessário no futuro, quando esses portadores heterozigotos gerarem filhos, reduzindo a incidência dessas patologias (11). Dessa forma, o aconselhamento genético produz efeitos preventivos (12). Do casamento ao acaso entre os portadores dos heterozigotos descritos acima, a probabilidade é de 25%, de nascerem filhos portadores de anemias hemolíticas crônica e incuráveis, embora tratáveis. É a partir dessas conclusões que se tornam necessárias medidas preventivas com diagnóstico e trata-

mento precoce para aumentar a sobrevivência e a qualidade de vida dos portadores, diminuindo as seqüelas e atenuando as suas complicações clínicas (4).

Juntamente com o resultado do exame de triagem neonatal seria interessante o envio para os pais dos recém-nascidos he-

terozigotos, informações através de folhetos explicativos sobre as características do traço falciforme, do traço da hemoglobina C, entre outras. Isso não dispensa as explicações mais detalhadas de uma futura consulta médica, porém diminuiria a preocupação dos pais das crianças.

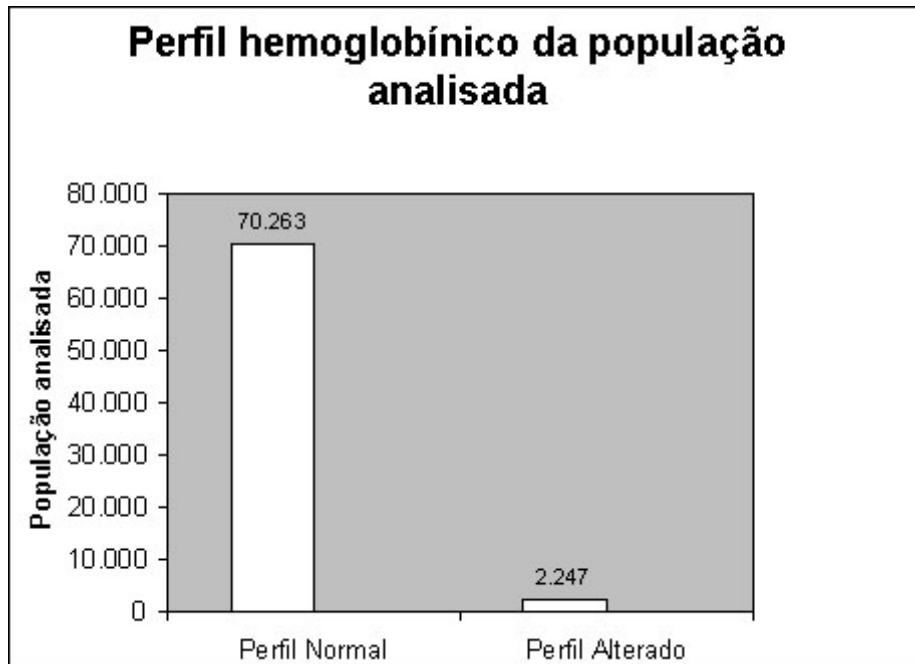


Figura 3 – Prevalência das hemoglobinopatias em patológicas, não patológicas e casos Indeterminados ou Inconclusivos.

Tabela 1 – Hemoglobinopatias não patológicas encontradas na população analisada.

Tipos de hemoglobinopatias consideradas não patológicas	Amostras	Prevalência na Amostra
AS	1.707	76,0%
AC	521	23,2%
Total de amostras alteradas no estudo: 2.277		

Tabela 2 – Hemoglobinopatias patológicas encontradas na população analisada.

Tipos de hemoglobinopatias consideradas patológicas	Amostras	Prevalência na amostra
SS	3	0,13%
SC	16	0,71%
Total de amostras alteradas no estudo: 2.277		

Tabela 3 – Distribuição Geral dos fenótipos encontrados na população Centro-Oeste do Estado de São Paulo.

Fenótipos	Número de Amostras	Porcentagens
AS / FA S	1.707	2,35
AC / FAC	521	0,72
SC / FSC	16	0,022
SS / FSS	3	0,004
N.º Total de amostras analisadas: 72.510		
N.º Total de amostras com fenótipos alterados: 2.277		

Referências bibliográficas

1. Ramalho AS. As hemoglobinopatias hereditárias: um problema de saúde pública no Brasil. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/CNPq; 1986. v.1, p.160.
2. Lehninger, AL. Princípios de bioquímica. 3ªed. São Paulo: Sarvier; 2002.
3. Salzano, FM, Tondo CV. Hemoglobin types in Brazilian populations. *Hemoglobin* 1982;6:85.
4. Ramalho AS, Magna LA, Paiva e Silva RB. A Portaria n.º 822/01 do Ministério da Saúde e a Triagem Neonatal das hemoglobinopatias. *Rev Bras Hematol Hemot* 2002;24(4):244-50.
5. Naoum, PC. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier; 1997.
6. Paiva e Silva RB, Ramalho AS. Riscos e benefícios da triagem genética. O traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira. *Rep Public Health* 1997;13(2):285-94.
7. De Franceschi L, Corroche R. Established and experimental treatments for sickle cell disease. *Haematologica* 2004;89(3):348-56.
8. Naoum PC. Hemoglobinopatias no Estado de São Paulo, métodos de estudo, prevalência, distribuição geográfica e relações históricas e antropológicas [tese]. São José do Rio Preto: UNESP/Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas; 1982.
9. Lehmann H, Hunstan RG. Man's haemoglobins. Amsterdam; 1974.
10. Fisher GB, Rathke CAF, Friedrish JR, Job FM. Características clínicas dos portadores de hemoglobinopatias. *J Bras Med (São Paulo)* 1999;(77):39-42.
11. Zago MA. Considerações gerais sobre as doenças falciformes. In: Manual de diagnósticos e tratamento das doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. p. 9-11.
12. Ramalho AS. Aconselhamento genético. In: Manual de diagnósticos e tratamento das doenças falciformes. Brasília: Ministério da Saúde; 2002. p.35-9.

Correspondência

Tiago Pultrini

Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências, Campus de Bauru, UNESP.

Av. Luiz Edmundo Carrijo Coube, s/n – Vargem Limpa, Bauru-SP.

Telefone (14) 3103-6078 / Fax (14) 3103-6092.

CEP 17033-270.

E-mail: ferreira@lpnet.com.br
