
TALASSEMIAS E OUTRAS HEMOBLOBINOPATIAS
TODAS AS ÁREAS, EXCETO CIÊNCIA BÁSICA

TALASSEMIAS E OUTRAS HEMOGLOBINOPATIAS: TODAS AS ÁREAS EXCETO CIÊNCIA BÁSICA

150

Descrição de mutação rara para variante de cadeia β ($\beta 2$ HIS-ARG)

Viviani NM, Almeida LP, Wengerkievicz AC, Martins DA, Silva ALS, Mendes ME, Sumita NM
Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – LIM 03, São Paulo-SP, Brasil

Introdução: As síndromes resultantes de alterações na síntese da hemoglobina constituem um grupo heterogêneo de distúrbios recessivos hereditários, e podem resultar em alterações qualitativas ou quantitativas. Enquanto as hemoglobinas variantes (HbV) se originam de mutações que produzem uma estrutura polipeptídica anormal, as talassemias representam um desbalanço na síntese das cadeias globínicas estruturalmente inalteradas. Os avanços diagnósticos permitiram o reconhecimento de um número crescente de hemoglobinas anormais, porém a disponibilidade de técnicas ainda é limitada na maioria dos laboratórios clínicos. Descrevemos neste trabalho a investigação laboratorial de um paciente, que levou a detecção de Hemoglobina *Deer Lodge*. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 11 anos, admitido por quadro febril. Durante a internação foi diagnosticada anemia microcítica e hipocrômica, com $5,03 \times 10^6$ eritrócitos/mm³, hemoglobina (Hb) de 11,1g/dL e hematócrito de 35,6%. Apresentava níveis normais de transferrina e capacidade total de ligação do ferro, ferritina no limite inferior de referência, ferro sérico e saturação da transferrina reduzidos. A pesquisa de hemólise resultou negativa, e a contagem de reticulócitos foi normal. A eletroforese evidenciou a presença de hemoglobina migrando entre as posições das HbA e HbS em meio alcalino, e na posição da HbA em meio ácido, sugerindo presença de HbV. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) caracterizou tempo de retenção semelhante a HbA2 em 52,4% da Hb. Para o diagnóstico diferencial, aplicou-se técnica molecular de sequenciamento que detectou a troca de um aminoácido Histidina (His) pela Arginina (Arg) no códon 6, em heterozigose, compatível com Hb *Deer Lodge*. Na pesquisa familiar, o pai não apresentou anomalia, e a mãe, de origem holandesa, não pode ser investigada. **Discussão:** A Hb *Deer Lodge* é decorrente da substituição do aminoácido His por Arg na cadeia $\beta 2$. Não há sintomatologia significativa decorrente desta mutação, porém a troca dos aminoácidos afeta a cinética e o equilíbrio das ligações entre as globinas, e sua interação com outras moléculas importantes no transporte e liberação do oxigênio (O₂), com consequente aumento da afinidade da Hb pelo O₂. A eletroforese demonstrou a presença de Hb em posição indeterminada, semelhante à Hb Fetal. O HPLC, por sua vez, caracterizou aumento da concentração de Hb com tempo de retenção semelhante ao da HbA2, levando as hipóteses de HbE e Hb Osu-Christiansborg. No entanto, o diagnóstico diferencial só pode ser concluído através da Biologia Molecular. As técnicas moleculares são fundamentais para caracterização laboratorial das hemoglobinopatias.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; *Deer Lodge*; Hemoglobina.

151

β -Talassemia por mutação rara no gene da cadeia beta: stop codon 6 (G→T)

Viviani NM, Almeida LP, Wengerkievicz AC, Martins DA, Silva ALS, Mendes ME, Sumita NM
Hospital das Clínicas da FMUSP – LIM 03, São Paulo-SP, Brasil

Introdução: A β -talassemia é uma condição genética heterogênea, decorrente da expressão diminuída da cadeia beta da hemoglobina humana. Já foram descritas aproximadamente 200 mutações, sendo que a maioria deve-se a mutações pontuais afetando o gene globínico. No entanto, deleções de um ou mais nucleotídeos, inversões ou rearranjos de sequências de DNA também podem ser encontrados. Esse trabalho tem como objetivo descrever uma mutação rara no gene da beta globina encontrada dentro de membros de uma mesma família. **Relato do caso:** Paciente feminino, 19 anos, foi internada após parto para investigação de anemia sintomática. Ao hemograma, apresentava hemácias microcíticas e hipocrômicas, com presença de ovalócitos e significativa policitose. A contagem de reticulócitos e os níveis de ferro sérico e ferritina encontravam-se dentro do intervalo de referência. A eletroforese de hemoglobina em meio alcalino detectou diminuição relativa de HbA (89,3%), elevação da HbF (4,2%) e HbA2 (6,5%). As hemácias apresentaram resistência osmótica ao NaCl 0,36%. A mãe de 42 anos apresentava quadro de anemia com características hematimétricas semelhantes. A sua filha, com 10 meses de idade, apresentava anemia microcítica e hipocrômica, policitose, e presença de esquizócitos, daciócitos e policromasia ao hemograma. A contagem de reticulócitos encontrava-se acima do intervalo referencial, bem como os níveis de ferro e ferritina séricos. O padrão eletroforético das hemoglobinas era compatível com um quadro de heterozigose para talassemia. Seu outro filho de 5 anos, de pai diferente, apresentou perfil normal. A análise molecular das acometidas revelou substituição do primeiro nucleotídeo, originando um stop codon (GAG→TAG), no sexto codon da cadeia beta globínica. **Discussão e conclusão:** A mutação nonsense originando um stop codon (GAG→TAG), caracterizada nesta família, é de ocorrência rara na população. A primeira descrição na literatura data do final da década de 90. A mutação resulta numa interrupção prematura da síntese da cadeia beta, e origina um produto rapidamente degradado na célula, que se apresenta fenotipicamente como uma $\beta 0$ talassemia. A paciente avaliada nesse estudo era clinicamente assintomática e passou a apresentar sintomas clínicos durante o pós-parto imediato, fato que motivou a investigação laboratorial da anemia. Acreditamos que o relato apresentado seja o segundo caso descrito para esse tipo de mutação.

Palavras-chave: Talassemia; Stop Codon; Mutação.

152

Identificação molecular da mutação deletional alfa 3.7 da talassemia alfa

Penna KGBD, Ramos ALM, Costa SHN, Bataus LAM
Universidade Federal de Goiás, Universidade Católica de Goiás, GO, Brasil

As talassemias constituem um significativo problema de saúde pública no mundo, com uma alta frequência de portadores devido à miscigenação frequente. As talassemias são caracterizadas por um vasto fenótipo clínico e hematológico heterogêneo. Elas são resultantes da redução ou da ausência da síntese de uma ou mais cadeias de globinas. A talassemia alfa é classificada em quatro tipos de acordo com o número de genes alfa afetado: portador silencioso ($-\alpha/\alpha$); traço alfa talassêmico ($-\alpha/\alpha$ ou $-\alpha/\alpha$); doença de hemoglobina H ($-\alpha/\alpha$) e hidropsia fetal ($-\alpha/\alpha$). A diminuição na síntese de globina alfa causa a produção inadequada de hemoglobina que resulta em anemia microcítica e hipocrômica. Causa também o acúmulo de cadeias do tipo beta, no interior do eritrócito, pela falta de balanceamento com a síntese da globina alfa afetada. O resultado deste desbalanceamento é a formação de tetrâmeros de cadeias beta denominados Hb H. O diagnóstico da talassemia alfa é baseado na detecção da Hb H na eletroforese alcalina em acetato de celulose ou na pesquisa dos agregados de

Hb H no interior dos eritrócitos através de uma pesquisa citológica. Porém no portador silencioso e no traço alfa talassêmico esta detecção é imprecisa necessitando de uma análise molecular para caracterização do genótipo e confirmação. **Objetivo:** O objetivo do trabalho foi detectar a forma delecional mais prevalente da talassemia alfa, a deleção $\alpha 3,7$. **Método:** Para a confirmação e caracterização da talassemia alfa, foram desenhados novos oligonucleotídeos. Através da técnica convencional da PCR, utilizando o par de oligonucleotídeos 3.7F/KGB01 foi possível detectar a deleção $\alpha 3,7$, diferenciando o genótipo normal ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), do heterozigoto ($-\alpha 3,7/\alpha\alpha$) e do homozigoto ($-\alpha 3,7/-\alpha 3,7$). Apesar de ter sido desenhado para detectar a deleção $\alpha 3,7$, este par também permitiu detectar a deleção $\alpha 4,2$ quando em homozigose ($-\alpha 4,2/-\alpha 4,2$). **Resultados:** A deleção mais prevalente encontrada foi a $\alpha 4,2$ (20,0%) sendo que destas podemos afirmar que 9,2% estão na forma homozigótica ($-\alpha 4,2/-\alpha 4,2$). A deleção do tipo $\alpha 3,7$ na forma heterozigótica foi detectada em 12,3% dos pacientes. **Conclusão:** Os dados obtidos ratificaram a importância da investigação de talassemia alfa utilizando técnicas moleculares, visto que pacientes com eritograma normal apresentaram mutações delecionais associadas ao gene alfa. Dessa forma a é possível esperar que os dados de portadores de talassemia alfa sejam subestimados em nosso país. A investigação molecular para detecção talassemia alfa deveria ser feita em pacientes que apresentem: quadros hematológicos alterados, quadros hematológicos normais, mas com valores próximos aos valores limítrofes e em neonatos.

Apoio: Fapeg/Edital 01/2007.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; Talassemia-alfa; HbH; Deleção $\alpha 3,7$.

153

Construção de novos oligonucleotídeos para identificação molecular da deleção alfa 4,2 da talassemia alfa

Penna KGBD, Ramos ALM, Mesquita MM, Costa SHN, Bataus LAM
Universidade Federal de Goiás, Universidade Católica de Goiás, GO, Brasil

As talassemias constituem um significativo problema de saúde pública no mundo, com uma alta frequência de portadores devido à miscigenação frequente. As talassemias são caracterizadas por um vasto fenótipo clínico e hematológico heterogêneo. Elas são resultantes da redução ou da ausência da síntese de uma ou mais cadeias de globinas. A talassemia alfa é classificada em quatro tipos de acordo com o número de genes alfa afetados: portador silencioso ($-\alpha/\alpha\alpha$); traço alfa talassêmico ($-\alpha/\alpha$ ou $-\alpha/-\alpha$); doença de hemoglobina H ($-\alpha/\alpha$) e hidropsia fetal ($-\alpha/-\alpha$). A diminuição na síntese de globina alfa causa a produção inadequada de hemoglobina que resulta em anemia microcítica e hipocrômica. Causa também o acúmulo de cadeias do tipo beta, no interior do eritrócito, pela falta de balanceamento com a síntese da globina alfa afetada. O resultado deste desbalanceamento é a formação de tetrâmeros de cadeias beta denominados Hb H. O diagnóstico da talassemia alfa é baseado na detecção da Hb H na eletroforese alcalina em acetato de celulose ou na pesquisa dos agregados de Hb H no interior dos eritrócitos através de uma pesquisa citológica. Porém no portador silencioso e no traço alfa talassêmico esta detecção é imprecisa necessitando de uma análise molecular para caracterização do genótipo e confirmação. **Objetivo:** O objetivo do trabalho foi detectar a forma delecional da talassemia alfa, a deleção $\alpha 4,2$. **Método:** Para a confirmação e caracterização da talassemia alfa, foram desenhados novos oligonucleotídeos. Através da técnica convencional da PCR, utilizando o par de oligonucleotídeos KGB04/KGB05 foi possível detectar a deleção $\alpha 4,2$, porém sem diferenciar entre o genótipo heterozigoto e homozigoto.

Resultados: A deleção mais prevalente encontrada foi a $\alpha 4,2$ (20,0%) sendo que destas podemos afirmar que 9,2% estão na forma homozigótica ($-\alpha 4,2/-\alpha 4,2$). Os dados obtidos revelaram a importância da detecção molecular para talassemia alfa não se restringir apenas na definição do genótipo, mas também na detecção deste tipo de talassemia em pacientes que apresentem: quadros hematológicos alterados, quadros hematológicos normais, mas com valores próximos aos valores limítrofes e em neonatos. *Palavras-chave:* Hemoglobinopatias; Talassemia-alfa; Hemoglobina H; Deleção $\alpha 4,2$.

154

Prevalência das talassemias no Serviço de Referência de Triagem Neonatal (SRTN) – Apae de São Paulo

Hadach SM, Iskandar MAM, Braga JAP, Garcia LRG, Balieiro GS, Corpa KKT
Apae de São Paulo, Universidade Federal de São Paulo-SP, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa e beta da molécula de hemoglobina. Desde 2001, foi incluída a pesquisa dessas hemoglobinopatias no Teste do Pezinho. Uma das hemoglobinas detectadas é a Bart's (gama4), responsável pela alfa talassemia. Os recém-nascidos que apresentam somente a Hb fetal na Triagem Neonatal terão o diagnóstico definido posteriormente, uma vez que esse achado pode ocorrer em prematuros que ainda não produzem a Hb A ou em beta talassêmicos ou devido à persistência hereditária da hemoglobina fetal e até mesmo em crianças normais. O teste da triagem neonatal não identifica a beta talassemia menor e a intermédia. **Objetivo:** Descrever a prevalência das talassemias encontradas na triagem neonatal realizada pelo SRTN Apae de São Paulo entre os anos de 2004 e 2008. **Casística e Método:** Realizada a triagem neonatal em 1.565.439 crianças, provenientes de 295 municípios do estado de São Paulo, para pesquisa de hemoglobinopatias, pelo SRTN Apae de São Paulo, no período de 2004 a 2008 através de Focalização Isoelétrica (FIE) e Cromatografia Líquida de Alto Desempenho ("High Performance Liquid Chromatography"- HPLC da Bio-Rad). Trata-se de um estudo retrospectivo, transversal e descritivo destes resultados. **Resultados:** Do total de 1.565.439 exames, a hemoglobina de Bart's foi detectada em 0,59% dos indivíduos. Destas, 76 recém-nascidos apresentaram a hemoglobina Bart's em concentrações elevadas, resultando em uma prevalência de 0,005% de doentes. O traço alfa talassêmico apresentou prevalência de 0,58%. Em 14 recém-nascidos diagnosticou-se apenas HbF, resultando em uma prevalência de 0,0009%. Estes casos foram encaminhados ao hematologista para acompanhamento e posterior reavaliação diagnóstica. **Conclusão:** A hemoglobina Bart's apresentou elevada prevalência na população estudada, o que demonstra a importância da triagem neonatal, permitindo o diagnóstico, uma vez que é no recém-nascido que conseguimos detectar esta hemoglobina. O diagnóstico de beta talassemia no recém-nascido ainda não é satisfatório.

Palavras-chave: Talassemia Alfa; Beta Hemoglobina.

155

Pesquisa de hemoglobinas anormais em uma comunidade indígena no Ceará

Gomes FVBAF, Oliveira LM, Franca LPS, Castro AJM, Pitombeira MHS, Carlos LMB
Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – Hemoce-CE, Brasil

Introdução: Doença falciforme é uma alteração hematológica constitucional frequente em todo o mundo. No Brasil, entre os anos 1551 a 1857 chegaram aproximadamente 3.500.000 africanos, devido ao tráfico de escravos negros. A doença é distribuída na população considerando a miscigenação racial entre negros, índios e brancos. No Sudeste do País, a prevalência de portadores falcêmicos é em torno de 2% para a população miscigenada. Estudos de prevalência estimam a presença de mais de 3 milhões de portadores de gene da hemoglobina S. Investigamos o perfil eletroforético da hemoglobina em criança de uma comunidade indígena no município de Crateús-Ceará, a 365 km de Fortaleza-CE. No Ceará são identificadas comunidades indígenas, algumas miscigenadas, pressupondo o aparecimento de doenças genéticas que usualmente não seriam encontradas nessa população. Foi estudada a comunidade indígena Potiguar miscigenada, que se comunica em língua portuguesa, não dominando mais a língua nativa (Tupi-guaraní). **Casística e Método:** A metodologia empregada foi eletroforese em ágar-amido em pH alcalino, teste de solubilidade (Itano) e HPLC. **Resultados:** Estudadas 100 crianças na faixa etária de 6 a 11 anos de idade, 57% eram do sexo masculino. Não foi encontrado Hb S nas amostras analisadas e a única Hb anormal encontrada foi a HbAC, em uma criança do sexo feminino. **Conclusão:** Apesar da miscigenação encontrada na nossa população não foi evidenciada na comunidade estudada a presença de gene da hemoglobina S.

Palavras-chave: Hemoglobinas Anormais.

156

Prevalência de hemoglobinas variantes no Ceará

Gomes FVBAF, Solon VRM, Castro AJM, Pitombeira MHS, Carlos LMB

Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará – Hemoce-CE, Brasil

Introdução: As hemoglobinas humanas com padrão de herança definido geneticamente apresentam variações polimórficas características dentro de nossa população, na dependência de grupos raciais que formam cada região. A ocorrência de mutações nos genes responsáveis pelo sequenciamento e estrutura de cada tipo de cadeia de hemoglobina provoca uma troca de aminoácidos, resultando na formação de hemoglobinas anormais, das quais as hemoglobinas S e C são as mais comuns.

Material e Método: Foram analisadas 112.225 amostras de sangue pelo método da eletroforese de hemoglobina em gel de ágar-amido pH 8,6 acetato de celulose pH 8,6 e teste de solubilidade. **Resultados:** Este trabalho apresenta os resultados de estudo feitos entre os anos de 1987 a 2008, avaliando a frequência de hemoglobinas anormais no estado do Ceará em população de diferentes faixas etárias (1 dia a 87 anos) e ambos os sexos, incluindo: 322 recém-nascidos, 660 crianças (6 meses-12 anos), 202 jovens (13-21 anos), 1.858 adultos (22-87 anos), 664 gestantes (14-46 anos) e 108.501 doadores de sangue. Este estudo foi realizado em hospitais, creches, escolas, maternidades e bancos de sangue situados em Fortaleza e algumas cidades do interior do estado. Foram encontrados: dois casos de SS (0,001%), 1.861 AS (1,65%); um SC (0,0008%); 341 AC (0,30%); 42 AD (0,03%); três AJ (0,002%). Entre doadores de sangue, a presença do traço falcêmico variou de 1,3% a 2,4%, com uma média de 1,75%. A porcentagem mais elevada (2,4%) foi encontrada na regional sul do estado. **Conclusão:** A recomendação da RDC nº 153/2004 para proceder a pesquisa da forma heterozigoto AS é de importância tanto para o doador, identificando-o como portador do traço falcêmico, como para o receptor, que só receberá o sangue se estiver dentro das condições preconizadas.

Palavras-chave: Prevalência de Hemoglobinas Variantes.

157

Avaliação do perfil do ferro em pacientes portadores de beta-talassemia heterozigótica

Gonçalves RP, Souza IP, Arruda ABL, Dutra LLA, Fonseca JC, Silva AB, Santos BSC, Martins MF, Freitas PV

Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil

Introdução: A talassemia beta heterozigótica é uma anemia hereditária resultante da heterozigose para uma das mutações que afetam a síntese das cadeias beta da hemoglobina. A sobrecarga do ferro é um problema de significativa morbidade e mortalidade que ocorre em todo o mundo, cujas causas apresentam grande variabilidade em diferentes grupos populacionais. Enquanto a sobrecarga do ferro em beta-talassêmicos em hipertransfusão é uma situação bem definida, existindo esquemas terapêuticos que visam minimizá-la, o mesmo não acontece com a talassemia menor, na qual estoques de ferro aumentados têm sido encontrados de forma não consensual. **Objetivos:** Avaliar o perfil do ferro em portadores de beta-talassemia menor, em acompanhamento ambulatorial no Centro de Hematologia e Hemoterapia do estado do Ceará (Hemoce). **Método:** Realizou-se um estudo transversal retrospectivo com vinte portadores de beta-talassemia heterozigóticos em acompanhamento ambulatorial no Hemoce. Foi constituído um grupo controle com vinte doadores de sangue provenientes da instituição acima mencionada. Foram avaliadas as variáveis: contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), níveis de hemoglobina A2 (HbA2) e de hemoglobina fetal (HbF), ferro sérico, capacidade de ligação latente do ferro (CLLFe), capacidade de ligação total do ferro (CTLFe), índice de saturação da transferrina (IST) e ferritina sérica. **Resultados:** O perfil dos portadores do traço beta-talassêmico se caracterizou por apresentar, na sua maioria, idade variando de 21 a 30 anos (35,0%), do sexo feminino (90,0%), sendo que 90,0% eram pardos, 5,0% eram brancos e os outros 5,0% eram negros. Verificou-se a presença de anemia de grau discreto, caracterizada morfologicamente por ser do tipo microcítica e hipocrômica, apresentando valores reduzidos de hemoglobina (85,0%), hematócrito (80,0%), HCM (95,0%), CHCM (40,0%), VCM (90,0%); com presença de níveis elevados de HbA2 (90,0%) e de HbF (75,0%). Em relação ao perfil do ferro, os parâmetros: ferro sérico, CLLFe, CTLFe e IST nos portadores de beta-talassemia, apresentaram-se, na grande maioria, dentro da faixa de normalidade. Observou-se, no entanto, níveis da ferritina sérica elevada em 20% dos pacientes, apresentando diferença estatística significante entre os portadores beta-talassêmicos heterozigóticos e o grupo controle ($p < 0,05$). **Conclusões:** Os resultados demonstraram a presença de sobrecarga de ferro, através da observação de valores aumentados de ferritina em alguns dos pacientes portadores de beta-talassemia. Estudos adicionais são necessários para confirmação da presença de sobrecarga de ferro, como a realização de Teste T2* de ressonância magnética cardíaca e hepática, teste de elevado valor estimativo na avaliação do acúmulo de ferro nestes órgãos.

Palavras-chave: Sobrecarga; Ferro; Beta-talassêmicos; Anemia.

158

Frequência de hemoglobinopatias em gestantes atendidas no ambulatório de pré-natal de hospital escola de Fortaleza

Gonçalves RP, Souza IP, Arruda ABL, Dutra LLA, Fonseca JC, Oliveira Filho JB, Araujo TDV, Santos BSC, Barbosa MC

Universidade Federal do Ceará – Fortaleza-CE, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias são doenças hereditárias da hemoglobina humana, geneticamente determinadas que apresentam morbidade e mortalidade significativas em todo o mundo. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi determinar, pelos testes de triagem, a presença de hemoglobinas variantes em gestantes atendidas no Ambulatório de Pré-Natal da Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC), Fortaleza-Ceará, no período de julho de 2007 a julho de 2009. **Método:** Foram analisadas amostras de sangue de todas as gestantes atendidas no Ambulatório de Pré-natal da MEAC, totalizando 440 amostras, sendo excluídas apenas aquelas que se recusaram a participar da pesquisa, não assinando o termo de consentimento. A metodologia empregada para as análises constou de hemograma automatizado, com posterior revisão de lâminas. Foram realizados testes de solubilidade e de falção para a triagem da Hb S; resistência osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%, como teste de triagem para talassemias, e eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose como teste confirmatório para hemoglobinas variantes. **Resultados:** Todas as gestantes atendidas no período participaram do estudo, totalizando 540 gestantes. Os resultados mostraram que 12 gestantes (2,22%) apresentaram hemoglobinas anormais, sendo 11 Hb AS (91,6%) e uma Hb AC (8,4%). **Conclusões:** Com os dados obtidos, foi confirmada a importância da triagem de hemoglobinopatias nos exames do pré-natal das gestantes, minimizando assim os problemas clínicos, psicossociais e financeiros relacionados à doença.

Palavras-chave: Hemoglobinas Anormais; Triagem Neonatal; Gestantes.

159

Estudo do fenótipo da beta talassemia heterozigótica entre estudantes da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem/UFC – Ceará

Gonçalves RP, Souza IP, Arruda ABL, Dutra LLA, Fonseca JC, Barbosa MC, Oliveira Filho JB, Silva AB, Santos BSC, Araújo TDV. Universidade Federal do Ceará – Fortaleza – CE, Brasil

Introdução: O Brasil é um país caracterizado por grande miscigenação, haja vista que, além dos ameríndios que já viviam no país, houve a povoação pelos europeus e africanos. Tal fato contribuiu para a disseminação de diversos defeitos genéticos entre a população brasileira que foi se formando. Dentre as alterações genéticas estão as hemoglobinopatias (hemoglobinas variantes e talassemias). No Brasil, a prevalência dessas alterações na população varia muito, pois depende dos grupos étnicos que colonizaram cada região. A determinação da prevalência dos genes causadores dessas anemias hereditárias ou hemoglobinopatias é complicada, porque, na maioria dos casos, os heterozigotos são assintomáticos e desconhecem o defeito genético do qual são portadores. Para oferecer um diagnóstico a essas pessoas, é necessária a realização de testes de triagem e específicos. Além do diagnóstico, a identificação dos traços, principalmente em uma população de indivíduos em idade fértil, como universitários, é importante também para a realização de um aconselhamento genético. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo principal a determinação do fenótipo para β -talassemia heterozigótica, entre os alunos da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará (FFOE/UFC). **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal prospectivo com um total de 102 estudantes recrutados de forma aleatória. Foram colhidos 5 mL de sangue venoso em tubo contendo o EDTA, como anticoagulante, e, para cada amostra, foram realizados hemograma, teste de resistência osmótica em NaCl a 0,36%, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino. Para as amostras que apresentaram VCM abaixo de 80fL, foi feita a dosagem de hemoglobina A2 (HbA2) em microcoluna de intercâmbio iônico.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizada nas amostras que apresentaram perfil eletroforético com hemoglobinas variantes. **Resultados:** Dos 102 estudantes, 46 foram do sexo masculino e 56 do sexo feminino, com idades variando de 17 a 31 anos, sendo 48 pardos, 47 brancos, 3 negros, 3 amarelos e um ameríndio. A maior parte da população avaliada foi natural de Fortaleza-CE – 91 (89,2%). Das 102 amostras, duas apresentaram perfil eletroforético similar à HbS. Após a realização da HPLC verificou-se que uma das amostras obteve um perfil cromatográfico compatível com Hb AD-Los Angeles, e outro confirmou o perfil de heterozigose para HbS. Não verificamos nenhum achado de traço beta talassêmico. **Conclusão:** A ausência de portadores do traço beta talassêmico em nossos resultados pode ser justificada por se tratar de uma doença rara no Nordeste e, provavelmente, pela pequena amostragem utilizada na pesquisa. Já os traços de HbS e HbD, que são mais frequentes no nosso estado pela ligação com a população de afrodescendentes, devem ser confirmados por estudos moleculares.

Palavras-chave: Beta Talassemia; Triagem Neonatal.

160

Possíveis fatores de transcrição envolvidos na persistência hereditária de hemoglobina fetal tipo brasileira

Roversi FM, Cunha AF, Lanaro C, Brugnerotto AF, Albuquerque DM, Costa FF. Universidade Estadual de Campinas-Unicamp – Campinas-SP, Brasil

Persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) é uma desordem hereditária benigna e incomum na qual a expressão dos genes gama globina persiste na fase adulta. O fenótipo PHHF está associado a extensas deleções no grupamento beta (PHHF deletional) ou mutações de ponto no promotor do gene gama (PHHF não deletional). A PHHF não deletional tipo Brasileira é caracterizada pela mutação de ponto C→G na posição -195 do promotor do gene gama A. A elevação dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) nesta mutação ocorre por um mecanismo diferente da PHHF tipo Inglesa (-198) pelo fato de não ser mediado pela proteína ativadora da transcrição Sp1. Os mecanismos genéticos e moleculares responsáveis pela persistência da expressão do gene gama A na PHHF tipo Brasileira ainda não estão completamente elucidados. **Objetivo:** Identificar possível(is) fator(es) de transcrição envolvidos na ativação ou repressão do gene gama A globina na PHHF tipo Brasileira. **Métodos:** Um indivíduo controle e um portador de PHHF tipo Brasileira foram selecionados a partir da observação do perfil eletroforético e de dados hematimétricos. Esses indivíduos apresentaram os seguintes índices: VCM: 92,4fL e 98,2fL, Hb: 14,3% e 13,3%, e HbF: 0,5% e 15,9%, respectivamente. Além disso, a região promotora do gene gama A foi amplificada e sequenciada para a determinação do genótipo. Células CD34+ de cada indivíduo foram isoladas do sangue periférico e cultivadas por 13 dias para maturação e diferenciação eritroide. Um ensaio de *array* DNA-proteína foi aplicado para a análise simultânea de diversos fatores de transcrição a partir do extrato nuclear obtido de células coletadas no 10º dia de cada cultura. **Resultados:** Resultados preliminares sugerem que alguns fatores de transcrição apresentam diferença na sua atividade em função da presença ou ausência da mutação -195 no promotor do gene gama A. No ensaio de *array* referente ao indivíduo controle, foi possível observar uma maior atividade dos fatores de transcrição NF-E1/YY1 e EKLF. O NF-E1/YY1 é um repressor dos genes epsilon e gama globina e um recrutador das enzimas histonas deacetilases, as quais, por inibirem a translocação nuclear do mitógeno p38, levam a uma diminuição na força de ligação de fatores ativadores às ilhas CpG do gene gama globina. O EKLF é

um ativador do promotor do gene beta globina, envolvido no *switching* de Hb. No ensaio de *array* relativo ao portador de PHHF tipo Brasileira, observou-se uma maior atividade do fator de transcrição Tat. Esse fator aumenta a processividade da RNA polimerase e previne a terminação prematura da transcrição de diversos promotores gênicos. **Conclusões:** Resultados preliminares indicam um possível envolvimento dos fatores de transcrição NF-E1/YY1, EKLF e Tat na PHHF tipo Brasileira, sendo o primeiro relato do envolvimento desses fatores na expressão continuada do gene gama A globina.

Apoio financeiro: Fapesp e CNPq.

Palavras-chave: PHHF; Fatores de Transcrição.

161

Investigação de talassemia alfa+ (deleção $-\alpha 3.7$) em indivíduos da cidade de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte

Bezerra CM, Barbosa MV, Alcoforado GHM, Medeiros WRDB, Serafim ESS, Fernandes TAAM, Medeiros TMD
Universidade Federal do Rio Grande do Norte-RN, Brasil

Objetivo: Investigar a prevalência da talassemia alfa+ (deleção $-\alpha 3.7$) em pacientes da cidade de Mossoró/RN atendidos no Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró e encaminhados ao Laboratório de Hematologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte para elucidação diagnóstica de anemia e/ou microcitose. **Método:** No período de julho de 2008 a maio de 2009 foram analisadas 68 amostras de sangue de pacientes provenientes da cidade de Mossoró, região oeste do estado do Rio Grande do Norte com solicitação para diagnóstico de talassemia alfa. As amostras de sangue periférico foram obtidas por punção venosa e distribuídas em tubos estéreis contendo EDTA. O hemograma foi realizado no contador automático de células Micros 60 (ABX Diagnostics) e a análise do perfil de hemoglobina consistiu de eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, dosagem de Hb A2 seguida de eluição, dosagem de Hb Fetal por desnaturação alcalina e teste de solubilidade, quando necessário. O DNA foi extraído utilizando-se o *kit blood genomicPrep Mini Spin* (GE Healthcare, USA) e a investigação da talassemia alfa (deleção $-\alpha 3.7$) foi realizada através de PCR segundo o protocolo de Dodé *et al.*, 1993. **Resultados:** Das 68 amostras analisadas, 13 (19,1%) apresentaram a deleção $-\alpha 3.7$, sendo 11 heterozigotos ($-\alpha 3.7/\alpha\alpha$) e 02 homozigotos ($-\alpha 3.7/-\alpha 3.7$), tendo sido observado em todos estes microcitose (VCM = $74,2 \pm 6,1$ fL) e hipocromia (HCM = $23,5 \pm 2,6$ pg). **Conclusão:** Os resultados encontrados reforçam a importância do diagnóstico molecular desta hemoglobinopatia em nossa população, uma vez que a talassemia alfa e a deficiência de ferro são importantes causas de microcitose e hipocromia. Este diagnóstico foi implantado há dois anos e ainda permanece o único no estado, tendo contribuído para a elucidação diagnóstica de pacientes não só da cidade do Natal, como também de outros municípios do Rio Grande do Norte anteriormente tratados, na maioria das vezes, como deficientes de ferro.

Suporte financeiro: CNPq (Processo nº 475855/2006-0).

Palavras-chave: Talassemia Alfa; Diagnóstico Molecular.

162

Parental awareness and cascade screening of Thalassaemia major

Mahanama BS, Premawardhana AP, Nishad AAN, Sampath A
University of Kelaniya Sri Lanka

Introduction: A strategy to prevent new births with thalassaemia major in countries where abortion is illegal is to screen the at risk

population for the carrier state and advocating "safe marriages". One of the highest risk groups to have the thalassaemic gene are the relatives of individuals with a child with thalassaemia major. A "cascade screening" of such relatives is an effective way to initiate and precede a much wider population screen. We wanted to identify the level of awareness of disease transmission and the extent to which cascade screening was already happening in families with affected children with thalassaemia major in Sri Lanka. **Methods:** A self administered questionnaire was used on parents of children with transfusion dependent thalassaemia attending the Thalassaemia Unit, Ragama to collect information on their awareness and screening of the first degree relatives. **Results:** A total of 101 parents were questioned. 60(59%) fathers and 92(91%) mothers knew their carrier state, 53(52.5%) fathers and 90(89.1%) mothers knew their carrier state has caused the illness of the child; only 65(64.4%) parents were using Long term contraception. Mothers had 370; fathers had 298 siblings and those siblings had 707 and 596 children respectively. Only 40 (10.8%) of maternal siblings and 12 (3.6%) of their spouses had been screened. 15(5%) of the paternal siblings and 15(5%) of their spouses had been screened for thalassaemia. Only 40 (5.6%) of maternal side children and 18 (3%) of paternal side children has been screened. **Conclusion:** Screening of relatives of patients with thalassaemia at present seems to be very limited and wider awareness and a screening programme targeting these high risk population must be launched without delay.

Palavras-chave: Thalassaemia; Trait; Cascade Screening.

163

Fatores hereditários para anemias hemolíticas: estudo de frequência em pacientes submetidos a tratamento dialítico

Isaias L, Santos ALB, Ribeiro EL, Vieira SB
Universidade Federal Fluminense-UFF – Niterói-RJ – Brasil

Introdução: A insuficiência renal crônica (IRC) é o estado de disfunção renal persistente, geralmente decorrente de um processo patológico lentamente progressivo que acomete 2 milhões de brasileiros. Entre os indivíduos com IRC submetidos à diálise, 28% não possuem a causa da nefropatia diagnosticada, entretanto é sabido que uma das causas clássicas de IRC é a nefropatia falciforme, causada em presença da hemoglobina S (Hb S) que é um fator hereditário para anemias e pode levar a frequentes crises hemolíticas. Os principais fatores hereditários para as anemias hereditárias são hemoglobinopatias, deficiências enzimáticas e talassemias. Portanto avaliar a presença de Hb S e de Hb H e realizar um teste qualitativo para deficiência de G6PD, que são muito prevalentes em nossa população, nos pacientes em tratamento dialítico seria informativo sobre o possível impacto que esses fatores podem ter sobre a função renal. **Casística e Método:** Foram selecionados 110 indivíduos submetidos a tratamento dialítico no Hospital Universitário Antonio Pedro (HUAP/UFF) e clínicas de doenças renais (CDR) da cidade de Niterói, dos quais 12 são submetidos a diálise peritoneal e 98 a hemodiálise. A abordagem acontecia no momento do tratamento, onde recebiam os esclarecimentos do estudo e assinavam termo de consentimento livre aprovados pelo comitê de ética da universidade. Coletamos 5 mL de sangue em tubo com EDTA para posterior realização dos exames de eletroforese de hemoglobina, teste de solubilidade, teste de afoçamento, pesquisa de qualitativa de G6PD e de Hb H. **Resultados:** Encontramos 4 indivíduos com Hb S e 1 com Hb C, ambos submetidos a hemodiálise. Na pesquisa de Hb H observou-se 38 indivíduos (38%) positivos, sendo 32 (84%) submetidos à hemodiálise e 6 (16%) submetidos a diálise peritoneal. Na pesquisa de deficiên-

cia de G6PD encontramos 4 (4%) indivíduos positivos, ambos submetidos a hemodiálise. **Conclusão:** As frequências da Hb S e da deficiência de G6PD, apresentaram-se muito semelhantes aos dados populacionais, enquanto na pesquisa da Hb H, observou-se uma frequência pouco maior. Ampliar o tamanho da amostra pode auxiliar na compreensão destes fatores.

Apoio: Proac/UFF.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; Hemodiálise; Talassemia; Hematologia.

164

Acurácia do teste de Brewer na triagem de recém-nascidos do Centro de Atenção Integral a Saúde da Mulher – CAISM/Unicamp

Souza DS, Bezerra MAC, Albuquerque DM, Fachini FP, Pinto AC, Machado APC, Cassone AL, Costa FF, Saad STO, Mezzacappa MA *Universidade Estadual de Campinas-Unicamp, Campinas-SP, Brasil*

A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) é um problema de saúde pública que afeta aproximadamente 400 milhões de pessoas no mundo, é um defeito enzimático das hemácias que pode causar episódios de hemólise aguda ou anemia hemolítica crônica ou ainda ser assintomática. A enzima é produzida por um gene que está localizado no cromossomo X; assim, as mulheres precisam ser homocigotas para apresentarem sintomas clínicos; por outro lado, os homens, quando herdam um gene defeituoso (homocigotos), apresentam manifestações clínicas. O diagnóstico pode ser realizado através da medida da atividade da enzima. Testes de baixo custo, tais como o teste de Brewer, podem ser utilizados como testes de triagem desta deficiência, principalmente no monitoramento de recém-nascidos que estão sob o risco de desenvolver icterícia. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi verificar a acurácia do teste da redução da meta-hemoglobina na detecção da deficiência da enzima em um grupo de recém-nascidos. **Casuística e Métodos:** Foram examinadas 697 crianças, onde foram coletados 5 ml de sangue do cordão umbilical, em tubos contendo EDTA e mantidos a 4°C. O teste colorimétrico da redução da meta-hemoglobina, denominado teste de Brewer, foi realizado em até 8 horas após a coleta do sangue. O DNA genômico foi extraído do sangue restante pela técnica de fenol/clorofórmio, e a amplificação do gene da G6PD dos éxons 4 e 6 foi realizada pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de RFLP, detectando assim as mutações Africana e Mediterrânea, utilizando as enzimas NlaIII e MboII respectivamente. **Resultados:** Das 697 amostras analisadas, 8,61% (n=60) foram detectadas como positivas pela técnica de Brewer. Todas as amostras foram submetidas à técnica de PCR e RFLP, onde foram detectados 6,45% (n=45) de casos positivos para a mutação Africana (202) e nenhum caso para mutação Mediterrânea. Portanto, a acurácia do teste da redução da meta-hemoglobina foi de 97,56%, pois apresentou resultado falso-positivo em 26,67% (n=16) dos casos e apenas 0,16% (n=1) de resultado falso-negativo. **Conclusões:** Com a observação dos resultados obtidos, concluímos que o teste da redução da meta-hemoglobina (teste de Brewer) pode ser utilizado como um teste preditivo da doença de deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, apresentando um baixo custo e uma alta eficiência.

Apoio: Fapesp

Palavras-chave: G6PD Icterícia; Cromossomo X; Anemia Hemolítica.