



HEMOGLOBINOPATIAS: DISTÚRBIOS DA HEMOGLOBINA NO BRASIL E DIAGNÓSTICOS LABORATORIAIS

Laura Suzin Ferreira¹, Sergio Luiz Bach²

Resumo

As hemoglobinopatias são distúrbios herdados recessivamente, com evidências de que surgiram de grande correlação com etnias específicas e de diferentes distribuições geográficas, sabendo da grande miscigenação da população brasileira, existe uma significativa incidência de hemoglobinopatias na nação s quais apresentam uma morbidade relevante. Essa patologia se refere a um distúrbio hereditário da hemoglobina humana, molécula que está presente na célula vermelha do sangue, cuja principal função é transporte de oxigênio. Estes distúrbios podem ser classificados de maneira geral devido às alterações de síntese diminuída ou ausente de algumas cadeias de hemoglobina ou também pela formação de hemoglobinas variantes devido a produção de cadeias anormais no gene da hemoglobina. Essa é uma revisão de literatura sobre hemoglobinopatias, e a elucidação de seu diagnóstico, tendo como objetivo apresentar as principais alterações de hemoglobina no Brasil, logo, as hemoglobinopatias mais descritas e a função do laboratório clínico na investigação desses distúrbios, devido a expressiva heterogeneidade clínica, tendo ênfase portanto na hemoglobinopatia da variante de hemoglobina S e as talassemias devido alteração de síntese de cadeia globínica. Sendo assim tem-se que é de suma importância o diagnóstico adequado e o conhecimento específico mínimo do profissional biomédico sobre as principais hemoglobinopatias para que haja um diagnóstico precoce e assim a melhoria na qualidade de vida do paciente, sabendo que o papel fundamental para avaliação é do patologista clínico em auxiliar o médico, visando o uso pensante do laboratório clínico, assim como apresentação de métodos disponíveis no objetivo de discutir as vantagens e as limitações de cada metodologia.

Palavras-chave: Hemoglobina. Hemoglobinopatias. Diagnóstico laboratorial.

Abstract

Hemoglobinopathies are recessively inherited disorders with evidence of high correlation with specific ethnicities and different geographic distributions, knowing the great miscegenation of the Brazilian population, there is a significant incidence of hemoglobinopathies in the nation and with relevant morbidity rates. This pathology refers to an inherited disorder of human hemoglobin, which is the molecule that is present in the red blood cell called hemacia, whose main function in hematia is oxygen transport. These disorders may be generally classified due to alterations of diminished or absent synthesis of some hemoglobin chains and also by the formation of variant hemoglobin due to the production of abnormal chains in the hemoglobin gene. This is a review of the literature on hemoglobinopathies and the elucidation of its diagnosis, aiming to present the main hemoglobin alterations in Brazil, as well as the hemoglobinopathies described above and the role of the clinical laboratory in the investigation of these disorders, due to the significant clinical heterogeneity, thus emphasizing the hemoglobinopathy of the hemoglobin S variant and the thalassemias due to the alteration of globin chain synthesis. Therefore, it is important to have an adequate diagnosis and minimum specific knowledge about the main hemoglobinopathies of the professional so that there is an early diagnosis and thus the improvement in the quality of life of the patient, knowing that the fundamental role for evaluation is the clinical pathologist in assisting the physician, aiming at the thinking use of the clinical laboratory, as well as presentation of available methods in order to discuss the advantages and limitations of each methodology.

Keywords: Hemoglobin. Hemoglobinopathies. Laboratory diagnosis.

1 Acadêmico do curso de biomedicina, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. Endereço eletrônico para correspondência: Laura Suzin, laura_suzin@hotmail.com

2 Farmacêutico, Doutor, Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. Endereço eletrônico para correspondência: Orientador: Sergio Bach, bach.sergio32@gmail.com

1 Introdução

A hemoglobina é uma molécula esférica que tem como principal função o transporte de oxigênio para os tecidos. As hemoglobinopatias representam os grupos de doenças autossômicas recessivas caracterizadas por variantes de hemoglobinas (Hb) anormais (exemplo: Hb C, Hb instáveis e Hb S) e talassemias do tipo alfa, beta, beta/delta, entre outras, logo, são doenças genéticas resultantes dessas alterações estruturais e funcionais da molécula de hemoglobina (NAOUM, 2007). Nos adultos, a molécula de hemoglobina normal (Hb A) é composta por duas globinas do tipo alfa (α) e duas do tipo beta (β), compondo um tetrâmero de 574 aminoácidos com formato globular e grupos heme, que são integrados por um anel no qual se aloja um átomo central de ferro (ORLANDO *et al.*, 2000). Devido a troca de aminoácidos em regiões que permitem a movimentação dos tetrâmeros durante a oxigenação, existe a apresentação dessas hemoglobinas variáveis e instáveis (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Cerca de 5% da população mundial é portadora de alguma hemoglobinopatia e é de taxa considerável de incidência na população Brasileira devido a grande miscigenação existente em nosso país, a vista que, as hemoglobinopatias mais vistas e estudadas são de origem africana e mediterrânea, raças que norteiam o nosso país (CALVO-GONZALEZ, 2017). Sabendo disso, do que se refere ao histórico e origem das hemoglobinopatias sabe-se que as primeiras alterações nas hemoglobinas ocorreram há 100 milhões de anos, onde os genes codificadores das globinas α e β se diferenciaram e começaram a evoluir de maneira independente, porém, a própria evolução humana foi influenciada pela transformação evolutiva da hemoglobina, desta forma ao longo do processo evolutivo esses genes das globinas, foram alvo de inúmeras mutações, tanto na região decodificadora quanto nas regiões responsáveis pelo controle de sua própria expressão gênica da hemoglobina, dando origem à Hb S, Hb C, Hb D, as talassemias alfa e beta entre outras (OLIVEIRA; MORAES, 2011).

Por volta da década de 1980, uma ampla gama de ferramentas diagnósticas passaram a ser disponibilizadas pelo laboratório, observando-se a modernização dos equipamentos e a simplificação dos procedimentos, para conseguir chegar ao diagnóstico exato dos distúrbios causadores de hemoglobinopatias, através de processos de triagem até exames complementares e específicos (KOHNE; KLEIHAUER, 2011). Desta forma o presente trabalho tem como objetivo, avaliar as principais alterações de hemoglobina no Brasil, logo, hemoglobinopatias mais descritas e a função do laboratório clínico na investigação desses distúrbios de hemoglobina, devido a expressiva heterogeneidade clínica.

2 Metodologia

O trabalho aqui descrito é uma revisão de literatura sobre as principais hemoglobinopatias encontradas no Brasil e a elucidação de seus diagnósticos, onde as bases de dados consultadas

foram: Scielo, Bireme, Science Direct, Pubmed, portal de periódicos CAPES e para selecionar os artigos e textos foram utilizados como bases os seguintes descritores: Hemoglobinopatias, Anemia falciforme, Talassemias, hemograma, eletroforese de hemoglobina, enzimas eritrocitárias, diagnósticos laboratoriais, entre outros. O período da pesquisa bibliográfica foi realizado entre Agosto de 2018 à novembro de 2018.

3 Discussão

3.1 Hemoglobina

A hemoglobina é a proteína mais estudada e conhecida em seus aspectos fisiológico, genético e bioquímico, com principal função de levar a oxigenação tecidual, sendo assim divisões respiratórias localizadas nas células vermelhas do sangue (ALMEIDA *et al*, 2011).

Sua estrutura é formada por quatro subunidades compostas de dois pares de cadeias polipeptídicas denominadas globinas, cada uma ligada a um grupo heme, que nada mais é do que um grupo prostético que consiste de um átomo de ferro contido no centro de um largo anel orgânico heterocíclico chamado protoporfirina IX (OLIVEIRA, MORAES, 2011).

Nos adultos, a molécula de hemoglobina normal (Hb A) é composta por duas globinas do tipo alfa (α) e duas do tipo beta (β) assim também denominada $\alpha_2\beta_2$ devido essa composição molecular, originando um tetrâmero de 574 aminoácido com formato globular e grupos heme, que são contidos por um anel porfirínico no qual se acomoda um átomo central de ferro, por isso alguns tipos de hemoglobinopatias se assemelham a anemias por depleção de ferro (OLIVEIRA, MORAES, 2011) (BONINI-DOMINGOS, 2006). Dessa maneira, as cadeias polipeptídicas se representam em um par de cadeias α ou α -like e um par de cadeias não- α , que pode ser β , γ , δ ou ϵ (TRENT, 2006). Essas cadeias das globinas α e β são decodificadas a partir de genes localizados em cromossomos diferentes, cromossomo 16 e 11 respectivamente, e estas duas classes de cadeias globínicas que a compõem são semelhantes.

Dispondo a α globina 141 aminoácidos e a globina do tipo β 146 aminoácidos, em sua sequência de aminoácidos e em suas configurações tridimensionais (CLARK, THEIN 2004).

Esse padrão da hemoglobina no adulto normal, portanto, contém em torno de 97% de HbA, logo, duas cadeias α -globina e duas cadeias β -globina, representadas por $\alpha_2\beta_2$, 2% de HbA2 determinada em α_2 e 1% de Hb fetal ou HbF, cuja caracterização é $\alpha_2\gamma_2$, que é a Hb principal na vida intrauterina (NAOUM, 1987). Logo, esse arranjo determina o padrão de expressão dos genes da α -globina no cromossomo 16 e β , γ ou δ -globina no cromossomo 11 (REIS *ET al.*, 2018).

Mutações na síntese da Hb dão formação a um grupo diversificado de distúrbios hereditários, classificados de acordo com o defeito resultante, ou seja, se essa alteração decorre de uma mutação no gene da Hb, assim produzindo cadeias polipeptídicas anormais, a condição é chamada de Hb variante, onde se classifica principalmente a Hb S da doença falciforme, entretanto, se a estrutura é

normal, mas a síntese das cadeias ocorre em quantidade inautêntica, é classificada como talassemia (ONDEI, ZAMARO, BONINI-DOMINGOS, 2005).

3.2 Histórico das hemoglobinopatias

As hemoglobinas apresentam grande número de variáveis a medida que se ampliam os estudos populacionais (RAMALHO, 2000). Os primeiros relatos de investigação da hemoglobinopatias foram descritos por volta de 1910 por James Herrick, onde apresentou evidências de células alongadas e em forma de foice em uma amostra sanguínea, e cerca de 20 anos depois Thomas Cooley e Pearl Lee, descreveram a síndrome clínica talassêmica com anemia grave, icterícia e hepatoesplenomegalia (NAOUM, 1984). Considera-se que as primeiras alterações nas hemoglobinas ocorreram devido os genes codificadores das globinas alfa e beta se diferenciarem e começarem a seguir suas vias evolutivas independentes, sendo assim tem-se que a própria evolução humana tenha sido influenciada pelas variações evolutivas da hemoglobina (BURCHARD, 2003). Uma grande gama de estudos apontam que essas mutações da molécula de hemoglobina apareceram no continente africano, sendo as principais alterações de característica do sangue da raça negra, na época a Hb S dando origem ao que temos hoje como anemia falciforme e traço falciforme, e de característica principalmente do sangue das regiões do mediterrâneo as talassemias alfa e beta, a vista disso, devido ao longo do processo evolutivo, os genes das globinas, foram alvo de inúmeras mutações, tanto na região decodificadora quanto nas regiões responsáveis pelo controle de sua expressão gênica, assim as mutações nos genes das globinas alfa e beta deram origem à Hb S e as talassemias alfa e beta, entre outras, sendo de forma clínica denominadas hemoglobinopatias (TAVARES-NETO, 1981).

Consequentemente, no Brasil houve o grande aparato das hemoglobinopatias devido a imigração dos escravos africanos e grande vinda de povos também mediterrâneos, e então a subsequente mistura racial entre diferentes grupos levou a contribuição para a vasta taxa de surgimento de genes anormais das globinas, assim resultando na ampla incidência de hemoglobinopatias presentes no Brasil, sendo essa taxa de 5% de toda a população brasileira é portadora de algum tipo de hemoglobinopatia (CALVO-GONZALEZ, 2017). As hemoglobinopatias estão dentre as doenças genéticas que são constantemente encontradas na população brasileira, essa alta prevalência da doença associada à gravidade das manifestações clínicas dos padrões homocigotos faz destas um sério problema de saúde pública, portanto de relevância primordial seus diagnósticos adequados (RAMALHO, 2000).

Inesperadamente, à medida que o país diminui o número de ocorrências das doenças infecciosas devido ao grande aparato diagnóstico laboratorial e formulação de novas vacinas e métodos de cura, as doenças genéticas passam a receber atenção significativa das sucursais de saúde pública, altas taxas de pesquisas biomédicas mostram que o país já iniciou seu processo de transição epidemiológica, vista pela crescente prevalência na atenção a doenças genéticas em

relação aos casos de doenças infecciosas e parasitárias, no entanto, mesmo com avanços das pesquisas, tem-se que doenças genéticas não têm cura, mas a busca por diagnósticos ideais e uma melhor condição de vida é eficaz na sobrevivência de seus portadores (REIS *et al.*, 2018).

3.3 Principais hemoglobinopatias

Dentre as hemoglobinopatias mais comuns vistas no Brasil estão a Anemia falciforme e as Talassemias (TAVARES-NETO *et al.*, 1986).

3.3.1 Anemia falciforme

A respeito da Anemia falciforme, sua etiologia é de origem genética, com um perfil autossômico recessivo devido a uma mutação de ponto GAG>GTG no gene da beta globina,

levando ao aparecimento de uma hemoglobina anormal, denominada hemoglobina S (HbS) (HARKNESS, 1989). O portador pode manifestar-se como assintomático quando é determinado seu padrão heterozigoto com um único gene mutado tendo apenas o traço falciforme (AS), entretanto, há relatos de morte súbita e complicações clínicas, especialmente quando os portadores são submetidos a condições extremas de baixa tensão de O₂, ou sintomático quando apresenta forma homozigota com dos dois genes mutados (SS) (POWARS, CHAN, SCHROEDER, 1990).

A precipitação da HbS tem como consequência principal a anemia hemolítica crônica e também a obstrução de pequenos vasos sanguíneos, que ocasionam lesões teciduais isquêmicas com crises de muita dor, infartamento e necrose em diversos órgãos, a vista disso, um dos fatores favoráveis a esses processos hemolíticos das células falciformes. Uma das características da lâmina de pacientes com anemia falciforme são os corpos de Heinz, que acontecem devido a desoxigenação da Hb S, a qual leva a sua metemoglobinização (metaHb S) e por conseguinte o aumento desse fragmento dentro da hemácia, então devido a sua alta concentração é desencadeada a degradação da meta-Hb S, com formação de subprodutos do grupo heme, e a precipitação da globina S, assim sendo oxidada sob forma desses corpos de Heinz (DACIE, *et al.*, 1964). Assim, decorrente de suas características físicas, em determinadas situações, a Hb S se polimeriza, levando a uma deformação das hemácias que tomam a forma de foice, células classificadas no hemograma como drepanócitos, responsáveis por vaso-oclusão e episódios de dor e lesões de órgãos (TAVARES-NETO, 1981).

É classificada como anemia porque durante essa formação do eritrócito em forma de foice, ocorre a degradação oxidativa da Hb S, com liberação de classes ativas de oxigênio, as quais alteram a disposição das imunoglobulinas G (IgG) na superfície da membrana do eritrócito, essa disposição desordenada da molécula de IgG em regiões da célula falciforme, fazem com que se torne mais fácil as ligações com os receptores de células endoteliais, dessa forma, induzem a ação dos fagócitos e macrófagos causando a hemólise e então a anemia (OLIVEIRA, MORAES, 2011). A

causa de toda essa mutação, vem da substituição de um ácido glutâmico por uma valina na posição 6 da cadeia beta e como consequência a modificação físico-química na molécula da hemoglobina, onde o ácido glutâmico é carregado de forma negativa enquanto a valina é um aminoácido neutro, assim resultando em uma alteração de carga da molécula de Hb o que leva em uma bandagem mais lenta da Hb S quando comparada com a Hb A em eletroforese (MARENGO-ROWE, 1965). Sendo assim classificada como uma hemoglobinopatia variante, pois é decorrida da mutação no gene da Hb, assim produzindo cadeias polipeptídicas anormais (ALMEIDA, *et al.*, 2011).

3.3.2 Talassemias

Outra importante hemoglobinopatia descrita principalmente na nação brasileira é a Talassemia onde diferente da anemia falciforme, tem a sua estrutura de hemoglobina normal, mas o defeito é na síntese das cadeias, pois ocorre em quantidade inautêntica (NAOUM *ET al.*, 1987). Portanto as talassemias se dão por erros nas proporções de globinas alfa e/ou betas sintetizadas, de acordo com a cadeia cuja síntese está prejudicada (WEATHERALL, 1997). Sendo assim as síndromes talassêmicas abrangem um grupo heterogêneo de disfunções genéticas, caracterizadas pela ausência ou redução na síntese de cadeia globínica (LIMA, REIS, GROTTTO, 1996). A talassemia beta caracteriza-se pela síntese danificada de cadeia beta e a talassemia alfa, pela queda na síntese de globina alfa (NAOUM, 1987). Nas formas sintomáticas, as talassemias se apresentam como anemia hemolítica crônica e são, muitas vezes, fatais na infância devido a hidropsia fetal em talassemia alfa maior (WEATHERALL, 1995).

As talassemias podem ser resultantes de deleções como é o caso das α -talassemias, onde as deleções decorrem como consequência de trocas desiguais entre duas regiões homólogas dos genes α -1 e α -2, sendo classificada em alfa talassemia maior, onde não é codificado nenhum gene de cadeia alfa, ocasionando a hidropisia fetal, e a alfa talassemia menor, com padrão heterozigoto codificando apenas dois genes alfa, apresentando aspectos clínicos similares ao de anemia por carência de ferro, porém a principal característica laboratorial diferencial da talassemia alfa é a visualização de precipitados de Hb H na pesquisa intra-eritrocitária em azul de cresil brilhante (KASSAB-CHEKIR, LORADI,

FERCHICHI, 2003). Indivíduos normais possuem quatro genes responsáveis pela produção de globinas alfa, portanto as formas de talassemia alfa são resultantes da deficiência de um, dois, três ou quatro genes alfa, sendo assim seus portadores classificados segundo o número de genes afetados em: portador silencioso quando um gene alfa é afetado, talassemia alfa heterozigota quando dois genes são afetados, doença da hemoglobina H e síndrome de hidropsia fetal quando respectivamente três e quatro genes alfa são afetados (TOMÉ-ALVES *et al.*, 2000).

Associadamente as β -talassemias são em muitos aspectos semelhantes às α -talassemias, porém é uma síndrome de hemoglobinopatias hereditárias caracterizadas por uma deficiência quantitativa das cadeias de β globina funcionais, no entanto, a produção reduzida de β -globina causa

um padrão específico de anemia e precipitação das cadeias α em excesso nas células precursoras das hemácias assim resultando numa eritropoiese ineficaz (NAOUM, 1984). Pacientes com Beta talassemia são geralmente assintomáticos, podem ter uma anemia com padrões de hipocromia e microcitose e níveis elevados de HbA2 e variável de Hb F, todavia, mesmo os portadores heterozigotos (menor) para a talassemia β tem uma

diversidade fenotípica comparável com aquela de talassemia homozigota (maior) (OLIVEIRA, MORAES, 2011). Às classificações da beta talassemia se dão quando o alelo para talassemia β é fenotipicamente “silencioso” onde a redução da cadeia β é mínima, sem anemia ou alterações hematológicas, ou em casos onde o estado heterozigótico provoca um fenótipo grave, isto é, quando o alelo β talassêmico é herdado de maneira predominantemente (BONINI-DOMINGOS, 2006). Desta forma, os alelos da talassemia β podem ser classificados como β^0 ou β^+ . Na talassemia β^0 , existe uma ausência completa da produção de globina β e corresponde à talassemia mais grave, já não β^+ existe a produção só que de forma diminuída de globina β (CLARKE, HIGGINS, 2000). As características hematológicas principais dos portadores talassêmicos são a presença de esquizócitos, dacriócitos, codócitos, hipocromia e pontilhados basófilos na visualização das células do hemograma, além de intensa microcitose (NAOUM *et al.*, 2006).

3.4 Avaliação e principais métodos laboratoriais para identificação das hemoglobinopatias

Sabe-se que as hemoglobinopatias estão dentre as doenças genéticas que são constantemente encontradas na população brasileira, essa alta prevalência da doença associada à gravidade das manifestações clínicas dos padrões homozigotos faz destas um sério problema de saúde pública, portanto de relevância primordial seus diagnósticos adequados (RAMALHO, 2000).

Para a avaliação laboratorial das principais hemoglobinopatias, devido a necessidade de diagnóstico precoce, visto que são doenças genéticas recessivas sem cura e com grande demanda nas centrais de aconselhamento genético, é necessário um cronograma de triagem e aparato de biologia molecular, equipamentos adequados, além de profissionais capacitados a identificar cada qual, para se existir um justo laudo e subsequentemente a melhoria na qualidade de vida do portador (BONINI-DOMINGOS, 2006). A triagem hematológica inicial é fundamental, com índices hematimétricos bem acurados, volume corpuscular médio (VCM), contagem de eritrócitos (RBC), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração hemoglobínica corpuscular média (CHCM) (DAUDT, 2002).

A maior parte dos sistemas de triagem utiliza o valor de VCM < 80 fL e uma HCM < 27 pg como médias de corte para a investigação adicional das talassemias, e esses dados em um contexto de RBC normal/alto e RDW normal associado ao exame do esfregaço, são altamente sugestivos também para tal hemoglobinopatia (COMPRI *et al.*, 1996). Assim como em portadores de HbS, a observação de hemácias falcizada, corpúsculos de Heinz e esquizócitos que sugerem hemólise intravascular, e portanto um indicativo da presença da hemoglobina S (DACIE *et al.*, 1964).

Os laboratórios clínicos que identificam hemoglobinopatias precisam necessariamente ter uma rotina para fazer um diagnóstico preciso, adequando-se, para realizar um fluxo de análises composta obrigatoriamente por cinco tipos de exames, que são: hemograma ou eritrograma paralelo ao relato de queixa clínica, os testes de triagem laboratorial, que incluem resistência osmótica, morfologia eritrocitária e procedimentos eletroforéticos em diferentes pH, a Cromatografia Líquida de alta performance (HPLC), focalização isoelétrica e confirmatório em biologia molecular (FERNANDES, MENDIBURU BONINI-DOMINGOS, 2006). No entanto, o laboratório deve ter profissionais devidamente capacitados para realizar estas análises e combiná-las apoiadas ao diagnóstico, possibilitando a troca de informações com o médico, a vista que as grandes dificuldades no diagnóstico de hemoglobinopatias se apresentam principalmente devido à imperícia técnica (NAOUM, BONINI-DOMINGOS, 2007). A vista disso, sabe-se que as hemoglobinopatias diferenciam-se entre si por possuírem características físico-químicas particulares e então isso leva a mobilidades eletroforéticas distintas (BONINI-DOMINGOS, 2006).

A eletroforese qualitativa e quantitativa de Hb é o principal método de triagem para detecção das hemoglobinopatias (ORLANDO *et al.*, 2000). Sendo um teste simples, rápido e com baixo custo, e já englobado no teste do pezinho em recém nascidos, a eletroforese qualitativa em pH alcalino (pH 8,6), realizada em acetato de celulose, separa as hemoglobinas normais Hb A, Hb F e Hb A2 das variantes mais comuns, como Hb S e Hb C, sabe-se que a hemoglobina variante S é padrão de traço falciforme (AS) ou anemia falciforme integral (SS) então é o método mais utilizado para o devido diagnóstico, como também avalia cadeia A2 também se classifica como método de triagem para as talassemias (NAOUM *et al.*, 1987).

Porém apresenta limitações, pois não permite a separação das hemoglobinas variantes que migram juntas com Hb S e Hb C, logo, algumas hemoglobinas instáveis, assim nesses casos se utiliza a eletroforese em pH ácido em ágar-fosfato, que fazem a separação dessas

hemoglobinas instáveis (MORENGO-ROWE, 1965). Por consequência o emprego de eletroforese alcalina em acetato de celulose, associado ao sistema de eletroforese ácida em ágar fosfato, permite uma identificação definitiva e mais exata (VELTA, 1968).

Outro procedimento utilizado é a focalização isoelétrica, com mais significativa capacidade de resolução que a eletroforese de Hb em acetato de celulose, e embora seja mais trabalhoso e demorado, tem sido aplicada também para triagem e diagnóstico mais preciso de hemoglobinopatias (NAOUM *et al.*, 1987). Esse método se expressa na utilização de um alicerce com gradiente de pH já pré-estabelecido e as movimentações das frações hemoglobínicas são baseadas no seu ponto isoelétrico, o que consente a separação de pontos isoelétricos de diferença de 0,001 unidades de pH, desta forma caracterizado mais especificamente em pH entre 6 e 8 das hemoglobinopatias, e é de vantagem por separar todas as hemoglobinas variantes e instáveis (TRENT, 2006).

A cromatografia líquida de alta performance (HPLC) é vista como a melhor técnica de escolha para pesquisa de hemoglobinas variantes e para quantificação da concentração da Hb A2, da Hb A e da Hb F, possibilitando a caracterização de todas as variantes estruturais de globina,

além de detectar as síndromes talassêmicas, tendo como vantagem a capacidade de migrar oito canais simultaneamente, permitindo assim o processamento de múltiplas amostras, por volta de 34 amostras por hora (KLEIHAUER, 1974). Quando ainda sim o diagnóstico permanece indefinido, é realizado a fase reversa da HPLC para separação das cadeias de globinas, sendo capaz de identificar as anormalidades das cadeias alfa, beta ou gama, e igualmente para a quantificação das cadeias da Hb F nos casos com Hb Fetal elevada (KLEIHAUER, 1974). A eletroforese baseada no sistema de capilaridade é comparável ao obtido pela HPLC (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Com a chegada da biologia molecular estudos mais específicos relacionados à estrutura e função dessa proteína e de suas formas vêm sendo realizados (CLARK, THEIN, 2004). Sendo assim, o último processo laboratorial para identificação das hemoglobinas variantes ou incomuns expressa-se dos métodos de biologia molecular realizados por meio de reação em cadeia de polimerase (PCR) e o sequenciamento de DNA, onde a PCR outorga ampliar milhões de vezes um fragmento específico de DNA (CLARK, THEIN, 2004).

Quando as suspeitas a respeito de hemoglobinopatias não forem confirmadas pelos testes anteriores e específicos, é de essencial relevância a análise de DNA, para assim a orientação genética e o programa adequado de aconselhamento genético (NAOUM, BONINI-DOMINGOS, 2007).

Conclusão

À vista disso, tem-se que é de suma importância o diagnóstico adequado e o conhecimento específico sobre no mínimo do profissional sobre as principais hemoglobinopatias para que haja um diagnóstico precoce e assim a melhoria na qualidade de vida do paciente, e até mesmo o plano de aconselhamento genético para prevenção, tratamento e auxílio nas gerações vindouras, tendo a significativa prevalência, concomitante à diversidade de alterações genéticas que deram a origem dessas condições, vemos os desafios e grande gama de diagnósticos, no entanto o papel fundamental para avaliação é do patologista clínico em auxiliar o médico a aplicar tais diagnósticos, visando o uso pensante do laboratório clínico, assim como apresentar os métodos disponíveis no objetivo de discutir as vantagens e as limitações de cada metodologia. A Organização Mundial da Saúde (OMS), nos informa que 270 milhões de pessoas de todos os continentes carregam genes que determinam a presença de hemoglobinas anormais, no Brasil devido a grande miscigenação ajudou para o aparecimento de genes anormais, tendo como principais a anemia falciforme e as talassemias, portanto assim a doenças autossômicas recessivas de variações tanto estruturais quanto de síntese de hemoglobina tiveram um aumento, com essa alta incidência, o teste para hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal foi implantado para um diagnóstico precoce e aconselhamento genético em nosso país, avaliando também pais anômalos.

Segundo a bióloga Claudia Regina Bonini Domingos, Doutora em Genética e responsável pelo Laboratório de Hemoglobina e Doenças Genéticas da Unesp – São José do Rio Preto/SP,

“Geralmente, para chegar a uma conclusão sobre uma hemoglobinopatia, não se utiliza apenas um método de diagnóstico laboratorial. É importante ter disponíveis várias metodologias em conjunto, cujo resultado direciona para o tipo de alteração presente.”

Referências

ALMEIDA, L.P.; WENGERKIEVICZ, A.C.; VIVIANI, N.M; ALBUQUERQUE, D.M.; MENDES, M.E; SUMITA, N.M. O estudo clínico na investigação dos distúrbios da hemoglobina. *Brasil Patologia Médica Laboratorial*, v. 47, n. 3, p. 271-278, jun. 2011.

BONINI-DOMINGOS, C.R. Identificação da hemoglobinopatia: questão de saúde pública. *Boletim controllab qualifique*, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 2-4, 2006.

BURCHARD, E. G. The importance of race and ethnic background in biomedical research and clinical practice. *The New England Journal of Medicine*, Massachusetts, v. 348, n. 12, p. 1170- 1175, 2003.

CALVO-GONZALEZ, E. Hemoglobinas Variáveis na Área Médica e no Tema Cotidiano: Um Olhar Sobre a Raça, Nação e Genética no Brasil contemporâneo. *Saúde social*, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 75-87, 2017.

CLARK, B.E.; THEIN, S.L. Molecular diagnosis of haemoglobin disorders. *Clin Lab Haematology*, v. 26, p. 159-76, 2004.

CLARKE, G. M.; HIGGINS, T. N. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem*, v. 46, n. 8, p. 1284-1290, 2000.

COMPRI, M.B.; POLIMENO, N.C.; STELLA, M.B.; RAMALHO, A.S. Programa comunitário de hemoglobinopatias hereditárias em população estudantil brasileira. *Rev. Saúde Pública*. v. 30, n. 2, p. 187-95, 1996.

DACIE, J.V.; GRIMES, A.J.; MEISLER, A.; STEIGOLD, L.; HEMSTED, E.H.; BEAVEN, G.H.; WHITE, J.C. Hereditary Heinz body anaemia, a report of studies of five patients with mild anaemia, *British Journal of Haematology* v. 10, p.388-390, 1964.

DAUDT, L.E. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, v.18, n.3, p.833-841, 2002.

FERNANDES, A.R.C.; MENDIBURU, C.F.; BONINI-DOMINGOS, C.R. Utilization of different methodologies for characterization of Hb Hasharon heterozygotes. *Genetics and molecular research*, v. 5, n. 1, p. 1-6, 2006.

HARKNESS, D.R. Sickle cell trait revisited. *Journal Medicine*. v. 87, p. 30-34, 1989.

KASSAB-CHEKIR, A.; LORADI, S.; FERCHICHI, S. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. *Clin Chim Acta* p.79-86, 2003.

KLEIHAUER, E. Determination of fetal hemoglobin: Evolution technique, in: Standardization of laboratory reagents and methods for the detection of hemoglobinopathies. *Center for Disease Control*, Atlanta, 1974.

KOHNE, E.; KLEIHAUER, E. Hemoglobinopathies: a longitudinal study over four decades. *Dtsch Arztebl Int*, v. 107, n. 5, p. 65-71, 2010.

LIMA, C.S.P.; REIS, A.R.C.; GROTO, H.Z.W. Comparison of red cell distribution width and red cell discriminant function incorporating volume dispersion for distinguishing iron deficiency from beta thalassemia trait in patients with microcytosis. *Medical Journal/RPM*, v.114, n.5, p.1265-1269, São Paulo, 1996.

MARENGO-ROWE, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *Journal Clin Pathol*, v.18, p.790-92, 1965.

NAOUM, P.C; BONINI-DOMINGOS, C.R. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, v. 29, n.3, p.226-228, 2007.

NAOUM, P.C.; QUERINO,S.S.S.; CURY, N.M.; TOLEDO,C.G.; NAOUM,F.A. Avaliação laboratorial da toxicidade molecular em eritrócitos talassêmicos. *Rev. bras. hematol. hemoter.* São José do Rio Preto- SP, v. 28, n. 4, p.301-302, 2006.

NAOUM, P.C.; ÁLVARES, F.; BONINI-DOMINGOS,C.R.; FERRARI, F.; MOREIRA, H.W.; SAMPAIO, Z.A.; MAZIERO, P.A.; CASTILHO, E. M. Hemoglobinas anormais no Brasil: prevalência e distribuição geográfica, *rev. Brasileira Patologia Clínica*, v.23, n.3, p.68-72, 1987.

NAOUM, P.C. Diagnóstico de hemoglobinopatias. São Paulo, Sarvier, 1987.

_____. Anemias imigrantes: a origem das anemias hereditárias no Brasil. *Ciencia Hoje*, v.3, n.14, p.59-64, 1984.

_____. Anemias imigrantes: a origem das anemias hereditárias no Brasil. *Ciência Hoje*, Rio de Janeiro, v. 3, n. 14, p. 59-64, 1984.

OLIVEIRA, J.B.; MORAES, K.C.M. Hemoglobinopatias: uma questão de saúde. XIII encontro latino americano de iniciação científica e IX encontro latino americano de pós-graduação - universidade do vale do paraíba, jun. 2011.

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*, v. 27, n. 1, p. 72-74, 2005.

ORLANDO, G.M; NAOUM, P.C; SIQUEIRA, F.A.M; BONINI-DOMINGOS,C.R. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. *Rev.Bras.hematol.hemoter*, São José do rio Preto- SP, v. 22, n. 2, p. 111-121, 2000.

POWARS, D.R.; CHAN, L.S.; SCHROEDER, A. The variable expression of sickle cell disease is genetically determined. *Semin. Hematol.* v.27 p. 360-376, 1990

RAMALHO, A.S.; PAIVA,R.B; SILVA, R.B. Community Genetics: a new discipline and its application in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*. v. 16, p. 261-263, 2000

REIS, F.M.; CASTELO BRANCO, R.R.; CONCEIÇÃO, A.M.; TRAJANO, L.P.; VIEIRA, J.F.; FERREIRA, P.R.B; ARAUJO, E.J.F. Incidência de hemoglobinas variantes em neonatos assistidos por um laboratório de saúde pública. *Einstein*, São Paulo, v.16 n. 2, 2018.

TAVARES-NETO, J. A hemoglobinopatia S: um problema de Saúde Pública e ocupacional. *Boletim de La Oficina Sanitária Panamericana*, v. 90, p. 229-238, 1981

TAVARES-NETO, J.J.; NAOUM,P.C.;ADORNO,J.; AZEVEDO,P.; BRITO, F.; CALDAS, M.; COUTO,M.; COSTA,K.; ARTINELLI,C.M.; GONZALES, A.; ASSAD, A.; MORTOZA,L.; REIS, F.M.M.C.; SILVA,P.; VIEIRA, M. Hemoglobinopatias no distrito Federal-BR. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1986.

TOMÉ-ALVES, R.; MARCHI-SALVADOR,D.P.; ORLANDO, G.M.; PALHARINI,L.A.; IMPERIAL,R.E.; NAOUM,P.C.; BONINI-DOMINGOS,C.R. Hemoglobinas AS / Alfa talassemia - importante diagnóstica.

Rev.bras.hematol.hemoter, São José do rio preto-sp, v. 22, n. 3, p. 388-394, fev. 2000.

TRENT, R.J.A. Diagnosis of the haemoglobinopathies. *Rev. Clin Biochem*, v. 27, n. 1, p. 27-38, 2006.

VELTA, F. Acid-agar gel electrophoresis of human hemoglobins. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 49, p. 440- 450, 1968.

WEATHERALL, D.J. Fortnightly review - the thalassaemias. *B.M.J.*, v. 314, p.1675-78, 1997.

_____. The molecular basis of phenotypic variability of common thalassaemias. *Molecular Medicine Today*, v.1, p. 15-20, 1995.